R. UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

OMAGGIO

181

AUG 1946
INSTITUTS

O. VERONA

STUDIO SULLE CAUSE MICROBICHE CHE DANNEGGIANO LA CARTA ED I LIBRI

Edito dall'*Ente Nazionale per la Cellulosa e per la Carta*, Roma, 1939-XVII.

ENTE NAZIONALE PER LA CELLULOSA E PER LA CARTA
EDIZIONI CULTURALI E DI PROPAGANDA

O. VERONA

Studio sulle cause microbiche che danneggiano la carta ed i libri

S. A. T. E. R.
Società Anonima Tipografica Edizioni Romane
Roma - Piazza di Pietra n. 34
1939 A. XVII

SOMMARIO

Premessa . . . . . *Pag.* 5

I — Breve cenno sulla fabbricazione della carta . . . . . » 6

II — Modo di contaminazione delle carte e modo di conservazione dei microrganismi . . . . » 8

III — Le segnalazioni relative ai cosidetti funghi carticoli . . . . . » 9

IV — La demolizione microbica della cellulosa con particolare riguardo all'azione dei funghi . . » 12

V — Rilievi speciologici:

1. Origine del materiale di studio . . . . . » 16
2. Metodi di isolamento e di coltura . . . . . » 16
3. Reperti batterioscopici . . . . . » 18
4. Indicazione e studio delle forme isolate:
   a) germi cellulositici . . . . . » 19
   b) funghi . . . . . » 23

VI — Modo di azione dei germi « papiricoli »:

1. Azione distruttrice e perforatrice . . . . . » 41
2. Maculatura:
   a) fattori di variazione . . . . . » 41
   b) estensione, forma e aspetto delle tacche . . . . . » 43
   c) colorazione delle tacche . . . . . » 43
   d) rilievi sul pigmento . . . . . » 43

VII — Riproduzione sperimentale delle alterazioni:

1. Metodo . . . . . » 43
2. Risultati:
   a) 1ª serie di esperienze . . . . . » 44
   b) 2ª » » » . . . . . » 44
   c) 3ª » » » . . . . . » 44

VIII — Profilassi e cura delle alterazioni:

1. Cenno storico . . . . . » 45
2. La tecnica della disinfezione . . . . . » 46

PREMESSA

L'importanza del tutto generale, oltrechè nazionale, della conservazione ed eventualmente del restauro dei libri qualora, sopratutto, si tratti di libri costituenti esemplari di particolare pregio storico o artistico o semplicemente di rarità, spiega l'interesse che ovunque viene rivolto allo studio delle cause capaci di alterazione e dei metodi atte a prevenirle o rimuoverle.

Le prime notizie sopra le cause di deterioramento dei libri risalgono, a quanto ci consta, al 1721 allorquando Frisch rinvenne in alcuni libri una larva non meglio identificata. Nel 1754 il « Gentleman's Magazine » di Londra ritenne responsabili gli insetti della distruzione dei libri, e così, quasi un secolo dopo (1853), De Quatrefages e, più tardi ancora, nel 1879, Hagen.

Nel 1903 Houlbert riferì sistematicamente sui diversi gruppi di insetti tra i quali catalogò Coleotteri, Ortotteri, Tisanuri, Pseudoneurotteri, Imenotteri, Lepidotteri e Aracnidi (1).

Pur non escludendosi l'intervento degli insetti un orientamento diverso presero gli studi relativi allorquando Sée richiamò l'attenzione nel 1917 (2) sui funghi e nel 1919 intese di estendere questo concetto (3) con il riordinamento delle specie « carticole » già note, la descrizione di alcune nuove e la riproduzione sperimentale delle alterazioni.

(1) Houlbert: *Les insectes ennemis des livres - Leurs mœurs - Les moyens de les détruire.* Paris, 1903.

(2) P. Sée: *Sur les moisissures causant l'altération du papier.* « C. R. de l'Acc. de Sc. », **164**, *230*, 1917.

(3) P. Sée: *Le maladies du papier piqué.* Paris, 1919.

Dopo tale lavoro che può dirsi fondamentale altre contribuzioni si ebbero in epoca del tutto recente (4).

In esse si riprendono i concetti di Sée con la segnalazione di antiche e nuove specie fungine.

Nel presente lavoro senza togliere importanza ai funghi carticoli sarà espresso il concetto, in base ad alcuni referti sperimentali, che l'azione di questi non appare sempre così profonda, comunque esclusiva, come si intende di ritenere; e che il loro sviluppo, in molti casi, è subordinato alla presenza di Schizomiceti « cellulofili » e « cellulositici » o « citofagi » già di per loro capaci di produrre più o meno profonde alterazioni.

La questione, naturalmente, si estende dal libro alla carta in genere ed investe la fabbricazione di questa in quanto le cause di contaminazione microrganica hanno luogo in gran parte durante i processi di manipolazione delle materie prime.

(4) G. Luz: *Ueber ein neues Verticillium vorkommen - Ber. Schweiz. Bot. Gesellsch.* **42**, *754*, 1933.

J. R. Sanborn: *Development and control of microörganisms in pulp and paper mill system.* « Journ. of Bact. », **25**, *70*, 1933.

A. Sartory, R. Sartory, J. Meyer e H. Bäumli: *Reproduction expérimentale de maladies cryptogamiques du papier.* « C. R. de l'Acc. de Sc. », **199**, *222*, 1934.

H. Bäumli: *Contribution à l'étude des parasites du papier.* Tesi. Strasburgo, 1934.

A. Sartory, R. Sartory, J. Meyer e H. Bäumli: *Quelques champignons inférieurs destructeurs du papier.* « Papier », **38**, *43* e *529*, 1935.

C. Sibilia: *Le « malattie » crittogamiche dei libri.* Acc. e Bibl. d'Italia, **9**, 1935.

I. - Breve cenno sulla fabbricazione della carta

L'arte della fabbricazione della carta risale all'antica civiltà cinese. Si allestivano allora fogli flessibili e lisci prodotti dal semplice infeltramento di fibre vegetali. Tsai-Lun, Ministro dell'Agricoltura cinese, lasciò indicato nel 123 a. C. che il gelso, la china e il bambù meglio di ogni altra pianta si prestano a questo scopo.

Nel VII e VIII secolo anche i giapponesi ed altri popoli vicini appresero a fabbricare la carta. Sono di quest'epoca le fabbriche di Samarkand nel Turkestan, di Bagdad e di Damas. E fu di qua, che, per opera degli arabi, tale industria passò molto più tardi in Europa. Prima in Spagna; poi, nel 1190, in Germania; nel 1200-1250 in Francia e in Italia ove nel 1300 sorse in Fabriano la prima fabbrica; nel 1430 in Svizzera; nel 1690, poi, in America; nel 1700 in Russia.

La produzione, naturalmente, fu da prima molto limitata ma non tardò a prendere grande sviluppo con la scoperta della stampa. Nel frattempo si perfezionarono i mezzi di estrazione della cellulosa e di lavorazione che divenne grandiosa con la introduzione delle « macchine-continue » per le quali potevano ottenersi fogli larghi 5-6 metri e di lunghezza indefinita. Oggi, tali macchine grandiose e complesse possono fornire persino 300 m. di carta al minuto.

La carta è costituita da una massa di cellulosa sfibrata e infeltrita. Questa proviene da stracci di cotone o di lino od anche da legno di piante diverse. Gli stracci, che dovrebbero venire subito disinfettati all'arrivo in fabbrica, vengono cerniti, indi lavati e « bolliti » al fine di togliere a mezzo di soda o calce, colore, grassi, resine e altri materiali impuri che contengono. Tolti dai bollitori vengono sciacquati e mescolati con acqua, ridotti in fine poltiglia. All'imbianchimento si procede a mezzo di ipoclorito sodico. La pasta, imbiancata, si libera dal cloro mediante tiosolfato sodico e soda, si lava abbondantemente indi si lascia sgocciolare in appositi magazzini dai quali si preleva per mescolarla in maggiori o minori proporzioni a seconda del tipo di carta alla pasta di legno.

L'impiego del legno nell'industria della carta data da circa un secolo. Il legno delle piante adatte allo scopo viene scortecciato, tagliato e sottoposto all'azione di macchine sfibratrici costituite da una macina di pietra che gira rapidamente asportando le fibre parallelamente e tangenzialmente. Esce da queste macchine una pasta più o meno fine, presenti scheggie, polveri e materiali incrostanti che si separano in appositi stacci di varie dimensioni o modelli. Essa va sotto il nome di « pasta di legno » o « pasta meccanica » e non si presta tal quale è all'allestimento diretto della carta.

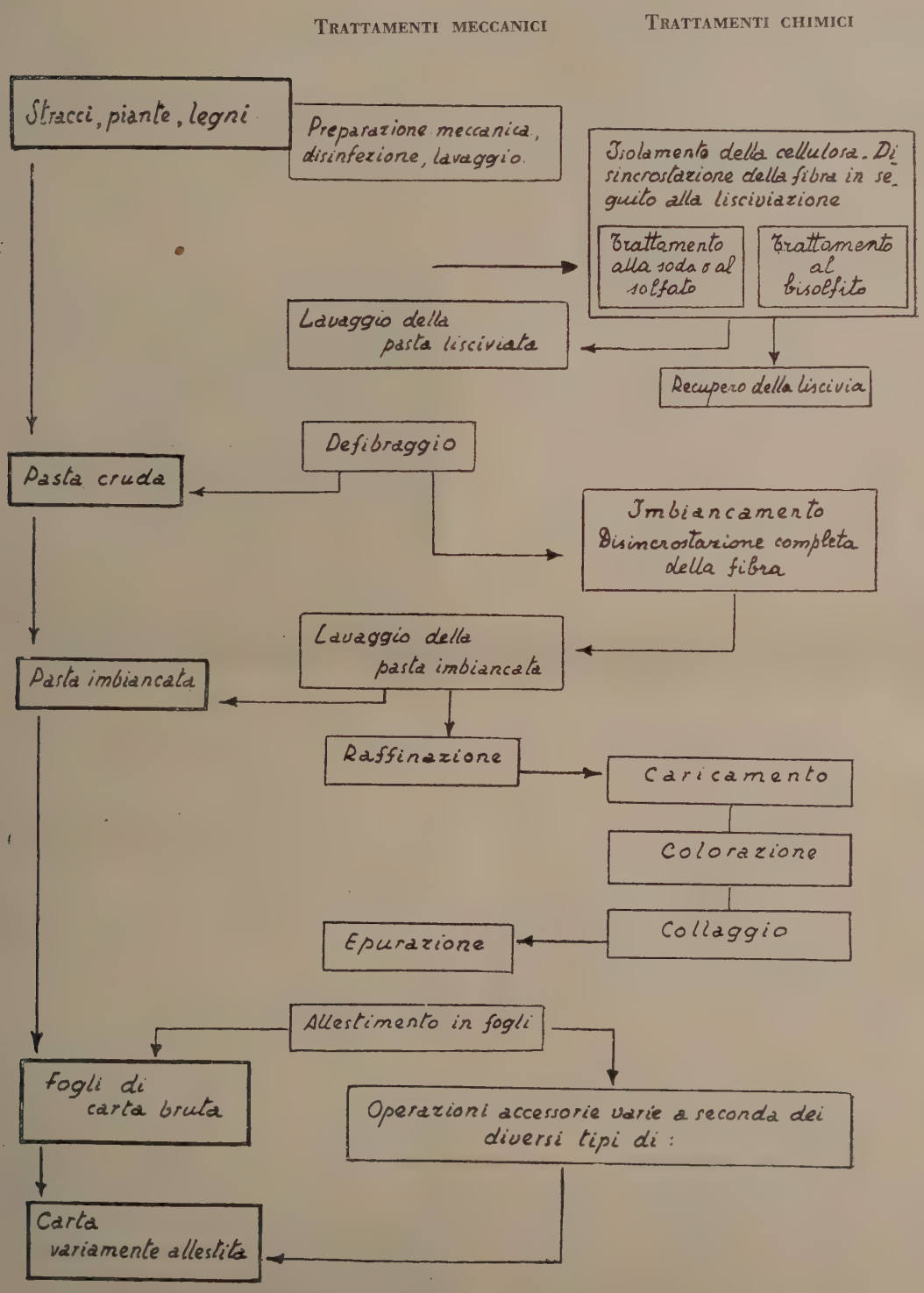
Accanto alla pasta di legno sta poi la cosidetta « pasta chimica » la quale è il risultato della trasformazione che il legno subisce a seguito di trattamenti diversi (pr. alla soda caustica, pr. elettrolitico, pr. al cloro) il più usato dei quali è quello al bisolfito di calcio (Mitscherlich) o di magnesio (Ekman). Con una soluzione di questi sali il legno viene trattato per un certo tempo entro grandi autoclavi raggiungenti la pressione di 3-4 atmosfere.

La massa di legno più o meno sminuzzata che esce dagli autoclavi viene sfibrata grossolanamente da macchine frantumatrici; indi, tanto la cellulosa (pasta chimica) quanto la pasta meccanica, separatamente o miscelate, si passano alle cosidette « olandesi » ove avviene la sfibratura e, eventualmente, anche l'imbianchimento con ipoclorito di calcio. Dopo ciò la massa viene lavata, passata sopra depuratori, infine mandata su stacci finissimi. Aspirandosi l'acqua al disotto degli stacci rimangono sopra le fibre di cellulosa feltrite in fogli il cui ulteriore asciugamento (fino al 12% di umidità) si compie su piani o cilindri riscaldati.

Ottenuta, nell'olandese, la « parte affinata » ossia il miscuglio delle materie prime diverse (stracci, pastalegno, cellulosa, ecc.) si fa l'azzurrazione o la colorazione voluta e la incollatura prima di passare la massa alla macchina continua. Queste operazioni possono essere compiute nell'olandese stessa.

L'azzurrazione si fa a mezzo di bleu di Prussia e bleu di anilina. La cosidetta « incollatura » che si rende necessaria per imprimere

Schema delle operazioni principali della fabbricazione della carta



una certa impermeabilità alla carta e non far spandere l'inchiostro si ottiene facendo uso di appositi preparati, i quali, possono stendersi direttamente sui fogli già formati (collaggio in superficie) oppure immedesimarsi nella pasta. Questa operazione non viene eseguita allorquando si preparano carte bibule e carte da filtri. L'incollatura, proposta da Moritz Illig, fin dal 1806, viene effettuata a mezzo di sostanze diverse rappresentate da colle a base di gelatina o di resine. L'uso delle prime è oggi generalmente abbandonato per la facilità di putrefazione cui i materiali vanno soggetti. Ovunque invece è usata la colofonia resa prima solubile con soda caustica (sapone di resina). Questo sapone si scioglie in acqua formando una emulsiose omogenea, finissima, persistente la cui efficacia può essere aumentata con aggiunta di salda d'amido o di caseina. Tale appretto viene impiegato in ragione del 2-5% sul peso di carta secca; e, avvenuta la mescolanza con la pasta, onde precipitare e fissare la resina sulle fibre si aggiunge una soluzione di solfato d'allumina (o allume potassico) puro o unito a solfato di magnesio.

Effettuate queste aggiunte per impedire che qualcuno dei componenti si separi dalla pasta questa si passa in tini muniti di agitatori. Si ottiene una specie di latte più o meno denso che, eventualmente e ulteriormente depurato, passa alle macchine continue quando non venga lavorato allo staccio.

Tali, schematicamente, sono le operazioni necessarie alla fabbricazione della carta.

Occupandosi delle cause di deterioramento della carta la conoscenza delle manipolazioni necessarie ad ottenerla ha una grande importanza in quanto è appunto durante queste diverse fasi che possono determinarsi le più varie contaminazioni.

II. - Modo di contaminazione delle carte e modo di conservazione dei microsganismi

Perchè, si domanda Sée, frammenti di carta messi in un mezzo sterile muffiscono? E perchè, aggiungiamo noi, frammenti di carta disposti su geli di silice imbevuti di sali minerali danno costantemente luogo a vegetazioni di batteri cellulositici?

Il notevole ritardo o la notevole prontezza con la quale compaiono le colonie dei funghi papiricoli o le tacche dei germi cellulositici, oppure la natura dei germi stessi; qualora si aggiunga la rigorosità di tecnica seguita nelle operazioni di coltura, fanno escludere una contaminazione accidentale dovuta alle modalità sperimentali.

Perciò non è difficile di ammettere che *le carte* di qualsiasi origine e di qualsiasi natura *racchiudono costantemente nel loro spessore germi vitali.*

D'altronde, ciò è provato dall'esame batterioscopico prima ancora dell'esame colturale; efficacemente da questo, poi, isolandosi bene spesso gli stessi agenti microrganici. Questa ultima constatazione porterebbe anzi taluno ad ammettere una vera e propria microflora specifica (« germi carticoli »).

Quale è *l'origine di tale contaminazione?* Essa può essere varia e in effetti può ricercarsi sia nel materiale di partenza, che durante tutte le fasi di manipolazione (infezione primitiva); può poi più facilmente determinarsi in seguito (infezioni secondarie) in dipendenza di circostanze agevolmente comprensibili.

Attraverso quanto si è accennato circa il modo di preparazione due tipi di carte si possono avere: carta senza collaggio (tipo carta bibula e da filtro) e carte che hanno subìto il processo dell'incollatura.

Queste ultime, che sono poi quelle di uso più comune, sono quelle meno facilmente soggette a deterioramenti microrganici. Senza attribuire grande valore a queste constatazioni, sta di fatto che, a seconda del tipo di collaggio, la resistenza all'infezione varia.

Un primo fattore di contaminazione primitiva lo troviamo nel materiale che proviene alle cartiere (stracci, piante, alberi), materiale che non sempre viene opportunamente disinfettato. E d'altronde: anche se tale materiale viene nelle successive operazioni variamente trattato con mezzi sterilizzanti, compreso il trattamento all'ipoclorito di calcio, è anche vero che esso viene poi lavato con acqua appena

e se del caso grossolanamente filtrata e quindi ricca, come è noto, di microrganismi.

Il collaggio, del resto, è pure fattore di contaminazione e se poco prima si è detto che le carte collate vanno meno soggette a deterioramenti dipende solo dal fatto che esse sono meno igroscopiche delle altre. L'azione preservativa del collaggio non può essere infatti che indiretta, poichè per la loro stessa natura colle e resine contengono germi diversissimi e numerosissimi, germi che invano si cerca di devitalizzare aggiungendo alle colle blandi disinfettanti.

Nè va dimenticata infine una terza causa di contaminazione primitiva rappresentata dai germi contenuti nell'aria degli essiccatoi ove vengono disposte le carte una volta allestite.

Tutto ciò a prescindere, naturalmente, da negligenze di fabbrica quali insufficienti lavaggi, cattive sterilizzazioni della pasta, ecc.

Le cause secondarie di contaminazione sono quelle di ordine generale ad incominciare dalle tipografie — per quanto si riferisce alle carte stampate — per finire alle Biblioteche senza prescindere dallo stato di pulizia delle mani dei lettori!

Attraverso l'esame diretto non è difficile accertarsi *in quale modo i microrganismi si trovano* nelle carte.

Particolarmente riferendosi ai funghi questi possono addirittura rinvenirsi allo *stato perfetto* come i numerosi *Chaetomium* e *Myxotrichum chartarum;* oppure, e di frequente, allo stato di *spore* come le varie *Stachybotrys;* o, ancora, allo stato *fumaginoide* e tale si verifica per alcune Demaziacee (*Alternaria, Stemphylium*); o, infine, allo stato di *micelio sterile* come alcuni *Fusarium*.

III. - Le segnalazioni relative ai cosidetti funghi carticoli. - I generi e le specie.

Sono ormai numerose le specie fungine segnalate presenti sulla carta. Uno sfoglio alla Sylloge di P. A. Saccardo e alla Kryptogamen-Flora di Rabenhorst integrato dall'esame delle pubblicazioni recenti e a nostra conoscenza ci ha fornito l'elenco che qui viene presentato.

Malauguratamente la maggior parte degli Autori che hanno descritto le diverse specie non sempre hanno fissato le condizioni nelle quali le specie stesse sono state rinvenute, per cui poco sappiamo se la carta costituisce per alcune un « habitat » relativamente abituale o non piuttosto del tutto occasionale.

Inoltre, molte specie, per essere di istituzione assai antica, appaiono suscettibili di revisione come particolarmente è dato di osservare per *Chaetomium* ed altri Ascomiceti e, tra gli Ifomiceti, le specie dei generi *Stachybotrys, Trichosporium, Stemphylium*, ecc.

Classis ASCOMYCETAE

Ordo Pyreniales

Fam. Perisporiaceae

1. *Cephalotheca Kriegei*, Rehm.
2. *Anixia cyclospora* (Cooke) Sacc. = *Orbicula cyclospora*, Cooke.
3. *Micromastia fimicola*, Syd.
4. *Perisporium vulgare*, Cda.

Fam. Sphaeriaceae

5. *Sphaerella Karsteniana*, Speg.
6. *Metasphaeria chartarum*, Sacc. et Syd.
7. *Leptosphaeria fibrincola*, v. Höhn. et Rehm.
8. — *papyricola*, Ell. et Ev.
9. — *papyrogena*, Sacc. — Secondo Sacc. questa specie rientra in *Leph. typharum* (Desm.) Karst.
10. *Pleospora chartarum*, Fuck. = *Sphaeria chartarum*, Fuck (sec. Rabenh.). — St. con.: *Dicoccum truncatum*. Cda.
11. *Pleospora malacospora*, Speg.
12. — *obtusa* (Fuck) v. Höhnel. = *Teichospora obtusa*. Fuck. — *Strickeria obtusa*, Wint.
    Fieberi, Fuck. (non Cda).
14. — *elatum*, Kunze = *Chaetomium*
13. *Chaetomium rufulum*, B. et Br.
15. *Chaetomium lageniforme*, Cda. — Probabilmente identico a *Ch. elatum* Kunze.
16. *Choetomium Fieberi*, Cda.
17. *Chaetomium chartarum*, Ehrenb.
18. — *affine*, Cda.
19. *Chaetomium griseum*, Cooke.
20. — *microsporum*, Speg.
21. — *megalocarpum*, Bain.
22. — *indicum*, Cda.
23. — *spirochaete*, Palliser.
24. — *cochlioides*, Palliser.
25. — *macrosporum*, Sacc. et Penz.
26. — *arachnoides*, Mass et Salm.
27. — *murorum*. Cda.
28. — *Kunzeanum*, Zopf. — In questa specie probabilmente rientrano molte di quelle segnate.

29. *Chaetomium chartarum* (Berk) Wint. nec Ehrenb. = *Ascotricha chartarum*, Berk. = *Dicyma chartarum*, Sacc.
30. *Chaetomium bostrychodes*. Zopf.
31. *Chaetomidium phyllactineum*, Bainier.
32. *Sordaria papyricola*, Winter. = *Hypocopra papyricola*, Sacc.

Fam. Hypocreaceae

33. *Calonectria circumposita*, Kirschst.
34. *Nectriella papyrogena*, Sacc. et Speg.
35. *Nectria charticola* (Fuck.) Sacc. = *Nectria charticola*, Fuck. = *Nectria charticola*, Sacc. = *Nectriella charticola*, Fuck. = *Sphaeria charticola*, Fuck.
36. *Nectria Pezicula*, Speg.
37. *Nectria Westhoffiana*, P. Henn et Lind.
38. *Melanospora damnosa*, Sacc.

Fam. Lophiostomataceae

39. *Platystomum chartarum* (Sacc. et Syd.) Sacc. et D. Sacc. = *Lophidium chartarum*, Sacc. et Syd.

Ordo Discales

Fam. Pezizaceae

40. *Pyronema Franzionianum*, de Not.
41. = *haemastigma* (Hedw.) Sacc. — Sec. Rabenh. = a *Pyronema Franzionianum v. rhopalascum*, Sacc.
42. *Pyronema chartarum* Quel.
43. — *domesticum* (Sow.) Sacc.
44. *Humaria Zukalii*, Rehm.
45. — *alpigena*, Lindau.
46. *Helotiella papyricola*, Ell. et Ev.
47. *Belonidium subcarneum*, Rem.
48. *Mollisia atrocinerea* (Cooke) Phill. f. *papyricola*, Rehm.

Fam. Ascobolaceae

49. *Ascophanus testaceus* (Mong.) Phill.
50. — *chartarum*, Kirschst.
51. *Ascobolus Costantini*, Roll.

Fam. Dermataceae

52. *Agyrium chartarum*, Peyl.
53. *Orbilia diaphana* (Sow.) Sacc.

Fam. Stictidaceae

54. *Ocellaria charticola*, Feltg.
55. *Phragmoenaevia charticola*, Feltg.

Fam. Phacidiaceae

56. *Phacidium geographicum*, Kickx. = *Pseudopeziza geographica*, Kickx.
57. *Phacidium mirabile*, Cooke.

Ordo Gymnoascales

58. *Eremascus fertilis*, Stoppele.
59. *Arachniotus aureus* (Eidam) Schr.
60. *Myxotrichum chartarum* Kunze. = *Oncidium chartarum*, Nees. = *Actinospira chartarum*, Cda.
61. *Eidamella spinosa*, Matr. et Dass.

Fungi IMPERFECTI

Ordo Sphaeropsidales

Fam. Sphaerioidaceae

62. *Phoma chartarum*, B. et C.
63. — *charticola*, Speg.
64. *Aposphaeria charticola*, Sacc.
65. *Pyrenochaeta tarda*, Sacc.
66. — *papyricola*, Ell. et Ev.
67. *Chaetomella atra*, Fuck, f. *charticola* F. Tassi.
68. *Cladochaete setosa* (Wint.) Sacc. = *Chaetomium setosum*, Wint.
69. *Ascochyta carticola*, F. Tassi.
70. *Camarosporium charticolum* (Speg.) Sacc.

Fam. Leptostromataceae

71. *Leptothyrium charticolum*, Vouaux.
72. — *papyricola*, Vouaux.
73. *Sacidium chartarum*, Sacc. et Penz.

Ordo Melanconiales

Fam. Melanconiaceae

74. *Gloesporium solani*, Osterw.
75. *Pestalozzia chartarum*, Bresad.

Ordo Hyphales

Fam. Mucedinaceae

76. *Malbranchea pulchella*, Sacc. et Penz.
77. *Oospora propinquella*, Sacc.
78. — *ochracea* (Cda.) Sacc. et Voglino.
79. *Monilia acremonium*, Delacroix.
80. *Geotrichum candidum*, Link.
82. *Oedocephalum roseum*, Cooke.
83. — *echinulatum*, Thaxt.
84. — *glomerulosum* (Bull) Sacc. = *Haplotrichum roseum*, Cda.
85. *Cephalosporium charticola*, Lindau.
86. *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz.
87. *Eidamia acremonioides* (Harz) Lindau = *Populaspora aspergilliformis*, Eidam.
88. *Aspergillus roseum*, Link.
89. — *sulphureus*, Desm.
90. — *nanus*, Dud.
91. — *fumigatus v. cellulosae* Hopf.
92. — *bruneofuscus*, Sée.
93. *Sterigmatocystis alba* (v. Tiegh.) Bain.
94. — *varia*, Bain.

95. *Penicillium brevicaule*, Sacc.
96. — *Costantinii*, Bain.
97. *Gliocladium compactum*, Cooke et Mass.
98. — *roseum*, Bain.
99. *Briarea orbicula* (Cda.), Bonord.
100. — *aurosa*, O. Rostrup.
101. *Sporotrichum expansum*, Niessl.
102. — *polysporum*, Link.
103. — *roseolum*, Dud. et Beijer.
104. *Sporotrichum roseum*, Link.
105. *Rhinotrichum lanosum*, Cooke.
106. *Monosporium chartarum*, Therry.
107. *Botrytis carnea*, Schum.
108. — *papyrogena*, Ell. et Barth.
109. — *paconiae*, Dud.
110. *Gonatobotrys flava*, Bon.
111. *Acrostalagmus cinnabarinus*, Cda.
112. *Spicaria elegans* (Cda.) Harz. var. *flava*, Sée.
113. *Trichotecium roseum* (Cda.) Link.
114. *Arthrobotrys roseum* (Cda.) Link.
115. — — v. *oligospora* (Fres.).
116. *Mycogone cervina*, Desm. v. *papyrogena*, Sacc.

Fam. Dematiaceae

117. *Coniosporium papyricola*, Lindau.
118. *Torula asperula*, Sacc.
119. — *chartarum* (Link) Cda.
120. *Hormiscium aurantiacum*, Lindau.
121. *Echinobotryum laeve*, Sacc.
122. *Periconia minima* (Cooke) Sacc.
123. — *alternata* (Berk.) Bomm. et Rous..
124. — *atra*, Cda.
125. — *Desmazieri* (Fries) Bonorden.
126. — *ellipsospora*, Penz. et Sacc.
127. *Synsporium biguttatum*, Preuss.
128. *Stachybotrys alternans*, Bonord.
129. — *papyrogena*, Sacc.
130. — *atra*, Cda.
131. — *lobulata*, Berk.
132. — *asperula*, Mass.
133. — *verrucosa*, Cooke et Mass.
134. *Trichosporium chartaceum* (Pers.) Sacc.
135. — *variabile*, Peck.
136. — *sphaerospermum* (Fuck) Sacc.
137. — *holosericeum* (Preuss.) Sacc.
138. — *binucleatum*, Karst.
139. — *olivatrum*, Sacc.
140. *Dematium pullulans*, De Bary.
141. *Dematium vinosum*, Massée.
142. *Haplographium chartarum* (Cooke) Sacc.
143. *Hormodendrum Hordei*, Bruhune, v. *parvisporum*, A. L. Smith.
144. *Myxotrichum deflexum*, Berk.
145. *Stachylidium chartarum*. Schulz. et Sacc.
146. *Dicoccum asperum* (Harz.) Cda., v. *charticola*, Sacc.
147. *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link.
148. — — v. *cellulosae*, Pers.
149. — *papyricolum*, B. et. Br.
150. — *paeoniae*, Passer.
151. *Fusariella viridiatra*, Sacc.
152. *Heterosporium cladosporioides*, Ell. et Ev.
153. *Coniothecium charticola*, Fuck.
154. — *pyramicula*, Bomm. Rouss. et Sacc.
155. *Sporodesmium chartarum*, B. et C.
156. — *echinulatum*, Speg.
157. *Stemphylium amareum*, Dud.
158. — *alternariae* (Cooke) Sacc.
159. — *asperosporum*, Cooke et Mass.
160. — *botryosum*, Wallr.
161. — — v. *domesticum*, Sacc.
162. — — v. *botrytis* (Preuss.).
163. — *graminis* (Cda.) Bonord.
164. — *macrosporoideum*, Berk.
165. — *piriforme*, Bonard.
166. — *verruculosum*, Zimm.
167. — *tetraedrico-globosum*, Bubâk.
168. *Macrosporium chartarum*, Peck.
169. — *bifurcum* (Fres.) Sacc.
170. — *consortiale*, v. Thüm.
171. *Alternaria chartarum*, Preuss.
172. — *humicola*, Dud.
173. — *polymorpha*, Planchon.
174. — *tenuis*, Nees.
175. — *varians*, Planchon.

Fam. Stilbaceae

176. *Stysanus medius*, Sacc.
177. — *stemmonites* (Pers.) Cda.
178. *Chardostylum bissoides* Tode (?).

Fam. Tuberculariaceae

179. *Epicoccum reticulatum*, Cooke.
180. *Myrothecium verrucaria* (Alb. et Schwein) Ditm.
181. *Myrothecium roridum*, Tode.
182. *Fusarium coerulem*, (Lib.) Sacc.
183. *Fusarium* sp. (Sée).
184. — — (Sée).

ADDENDA

185. *Myxococcus rubescens*, Thaxt.
186. *Rosophidium roseum*, De Bary.
187. *Sphaeria epipapyrea*, Wallr.
188. *Diploospora rosea*, Grove.
189. *Populospora polyspora*, Hotson.
190. — *nigra*, Hotson.
191. — *anomala*, Hotson.
192. *Trichosporium collae* (Link.) Sacc.
193. *Oospora parca*, Sacc.
194. — *coccinea* (Cda.) Sacc.
195. — *virescens*, (Link.) Wallsr.
196. *Sporotrichum flavissimus*, Link.
197. *Actinomyces cellulosae*, Krainsky.
198. *Actinomyces* sp. (Sée) (sub. Nocardia).

Trattasi dunque di circa 200 specie appartenenti ai generi più diversi e tra i quali, per ricchezza di specie, notasi:

Chaetomium	19	Aspergillus	5
Stemphylium	11	Pyronema	4
Trichosporium	7	Cladosporium	4
Stachybotrys	6	Leptosphaeria	3
Sporotrichum	5	Pleospora	3
Periconia	5	Nectria	3
Oospora	5	Oedocephalum	3
Alternaria	5	Macrosporium	3

In testa stanno i generi: *Chaetomium*, *Stemphylium*, *Trichosporium*, *Stachybotrys*.

Una revisione critica, tuttavia, di tutte queste specie probabilmente condurrebbe ad una riduzione di numero in quanto che molte di esse, qualificate carticole, non differenziano affatto da altre già note e ad « habitat » diverso.

D'altra parte, abbiamo detto, non sempre sono state esaurientemente fissate le condizioni di rinvenimento. E siccome molte specie provengono da carte murali ricche di colla e di colori; da carte lorde di escrementi o imbrattate di terra; oppure ancora da carte usate per avvolgere salami, formaggi, ecc.; o infine, in carta da erbario imbevuta generalmente da succhi vegetali; l'elenco prima prospettato è suscettibile di riduzione essendo assai dubbio che tali specie abbiano una effettiva capacità di vivere esclusivamente sulla carta (5).

E non meno dubbia appare l'affermazione, anche se suffragata da alcuni dati sperimentali, pertanto non scevri di critica, che i funghi ricordati esplichino abitudini spiccatamente cellulositiche.

IV. - La demolizione microbica della cellulosa con particolare riguardo dell'azione dei funghi

A parte i lavori di carattere orientativo (6) di Mitscherlich (1850), Trécul (1865), Popoff (1875), van Tieghem (1877-79), Tappeiner (1883), Hoppe-Seyler (1886), i primi studi sulla degradazione microbica della cellulosa razionalmente impostati risalgono al 1895, epoca in cui Omeliansky (7) comunicò all'Accademia di Scienze di Parigi nella seduta del 4 novembre che egli aveva trovato un bacillo specifico della cellulosa e che l'*Amylobacter*

(5) Per esempio:

Da carte murali:
Anixia cyclospora (Cooke) Sacc.
Rhinotrichum lanosum Cooke.
Hormiscium aurantiacum Lindau.
Trichosporium variabile Peck.
Stemphylium Alternariae (Cooke) Sacc.

Da carte rinvenute sopra escrementi:
Sphaerella karsteniana Speg.
Pleospora malacospora Speg.
Nectria Pezicula Speg.
Phoma charticola Speg.
Ascochyta charticola F. Tassi.
Camarosporium charticolum (Speg.) Sacc.
Sporodesmium echinulatum Speg.

Da carta con sterco di topo:
Coniothecium pyramidula Bomm. Rouss. et Sacc.

Da carta lorda:
Monilia acremonium Delacr.

Da carta imbrattata di terra:
Nectria charticola (Fuck.) Sacc.

Da carta imbevuta di estratto di carne:
Humaria Zukalii Rehm.

Da carta avvolgente formaggio:
Oedocephalum echinulatum Thaxt.

Da carta pergam. contenente lamponi:
Aspergillus nanus Dud.

Da carta con gelatina:
Eremascus fertilis Stoppel

Da carte di erbario:
Chaetomium macrosporum Sacc. et Peur.
Nectriella papyrogena Sacc. et Peur.
Phacidium mirabile Cooke.
Stachybotrys verrucosa Cooke et Mass.

(6) Mitscherlich: *Ueber die Zusammensetzung der Wand der Pflanzenzelle*. Ann. Chem. u. Pharm., 75, *305*, 1850.

Trécul: C. R. Acc. de Sc., **61**, 1865.

Popoff L.: *Ueber Sumpfgasgärung*. Archiv f. ges. Phys., **10**, *113*, 1875.

V. Tieghem: C. R. Acc. de Sc., **88**, 1878 e **89**, 1879.

Tappeiner H.: *Ueber Cellulosegärung*. Ber. d. deutsch. chem., Gesell., **15**, 999, 1882; **16**, *1734*, 1883.

— *Ueber die Gärung der Cellulose, insbesondere über deren Lösung im Darmkanal*. Zeitschr. f. Biol., **20**, *52*, 1884.

Hoppe-Seyler F.: *Gärung der Cellulose*. Ber. d. deutsch. chem. Gesell., **16**, *122*, 1883.

— *Ueber die Gärung der Cellulose mit Bildung von Methan u. Kohlensäure*. Zeitschr. f. Physiol. Chemi., **10**, *401*, 1886.

(7) Omeliansky V.: C. R. Acc. Sc., **121**, *653*, 1895.

— Centr. f. Bakt., **8**, *193*, 1902; **11**, *369*, 1903; **12**, *33*, 1904.

di v. Tieghem in coltura pura si dimostra completamente inattivo. Lo stesso Omeliansky, nel 1902, pubblicò in esteso i risultati delle sue ricerche, ricerche che gli permisero di affermare, come è ben noto, essere il processo prevalentemente anaerobico decorrendo ora con produzione di idrogeno, ora di metano: segnalò e figurò le forme specifiche.

Nel 1904 van Iterson jr. (8) distinse quattro maniere di disgregazione della cellulosa:

in anaerobiosi

1° Batteri agenti in presenza di nitrati;
2° Batteri agenti in assenza di nitrati;

in aerobiosi

3° In mezzo alcalino: batteri;
4° In mezzo acido: funghi.

Substrati costituiti da carta bagnata con soluzioni nutritive minerali vennero insemenzati con terra o materiali in decomposizione. Notò lo sviluppo di molte forme tra le quali *B. ferrugineus* che pertanto non riuscì a coltivare in coltura pura e numerosi funghi (*Mycogone puccinioides, Trichocladium asperum, Stenophyllum macrosporoideum, Chaetomella horrida, Botrytis vulgaris, Epicoccus purpurescens*) questi facilmente coltivabili nei diversi substrati. Il merito di v. Iterson fu quello di richiamare l'attenzione dei microbiologi sulla possibilità della decomposizione aerobica della cellulosa. Che l'attacco di questa fosse però possibile a mezzo delle colture pure da lui isolate rimase a dimostrarsi. E fu negato poi, per i funghi, da Schellenberg (9) il quale comunicò alla Soc. Elvetica di Lucerna nella seduta del 12 settembre 1905 che i funghi attaccano solo le varie forme di emicellulosa.

La questione fu ripresa nel 1912 da Kellerman e collaboratori (10). Isolarono questi una trentina di specie batteriche la cui attività cellulositica fu intesa di dimostrare a mezzo di colture allestite con agar-cellulosa presenti, con altri, sali ammoniacali. Le specie cellulositiche provocherebbero la formazione, alla periferia della colonia, di un alone che fu creduto di prendere come indice dell'avvenuto disgregamento. Senza voler molto discutere i lavori della scuola di Kellerman si deve tuttavia notare come sia assai azzardato attribuire valore dimostrativo a queste zone periferiche che potrebbero essere semplicemente attributi delle colonie o modificazioni dell'agar sotto la influenza dello sviluppo microbico. D'altra parte la cellulosa adoperata nell'allestimento dei substrati non era rappresentata da cellulosa in fibre ma da cellulosa ottenuta in seguito al trattamento della carta da filtro con soluzione cupro-ammoniacale precipitata poi con *HCl* o altrimenti disciolta in H_2SO_4 conc. e poi precipitata con eccesso di acqua.

Notevole valore assume invece (specialmente dopo gli studi di Winogradsky) la segnalazione di Hutchinson e Clayton i quali riuscirono a isolare nel 1919 a Rothamsted la *Spirochaeta Cytophaga* (oggi *Cytophaga Hutchinsonii* Win.) di indubbio ed alto potere fibrolitico (11).

Non molto di nuovo — anzi nulla di nuovo in fatto di metodica — portarono le successive ricerche (12) di Groenewege (1920), Sack (1924), Gray e Chalmers (1924). *Microspora agar-liquefaciens*, isolata da questi ultimi, capace ad un tempo di liquefare l'agar e decomporre la cellulosa ed altresì dare vegetazioni su brodi e gelatine non sembra rappresentare una entità specifica sì che la sua esistenza non da tutti, ragionevolmente, è stata accettata.

Waksman e la sua scuola indagarono molto (1925-26) (13) il processo di decomposizione

(8) Iterson (C. van): Centr. f. Bakt., **11**, *689*, 1904.

(9) Schellenberg H.: *Untersuchungen über das Verhalten einiger Pilze gegen Hemicellulose*. Flora, **98**, *258*, 1908.

(10) Kellerman e Mc Beth: *The fermentation of cellulose*. C. f. B., **34**, *485*, 1912.

Kellerman, Mc Beth, Scales e Smith: *Identification et classification of cellulose dissolving bacteria*. C. f. B.,**39**, *502*, 1913-14.

(11) Hutchinson N. B. e Clayton I.: *On the decomposition of cellulose by an aerobic organism* (Spirochaeta Cytophaga n. sp.). The Journ. of. Agric. Sci., **9**, *143*, 1919.

(12) Groenewege: Bull. Jardin Bot. Buitenzorg, **2**, *261*, 1920.

Sack: C. f. B., II, **62**, *77*, 1924.

Gray e Chalmers: Ann. Applied Biology., **11**, *324*, 1924.

(13) Waksman e Skinner: *Microorganisms concerned in the decomposition of cellulose in the soil*. J. of. Bact., **12**, *57*, 1926.

Waksman: *Cellulose and its decomposition in the soil by microorganisms*. Proc. of the Int. Soc. of Soil Sc., **2**, *293*, 1926.

della cellulosa nel suolo ma non descrissero nessun germe specifico dei tanti e diversi (batteri, attinomiceti, funghi) ritenuti responsabili del processo. Il risultato più importante conseguito attraverso la loro serie di lavori fu quello d'aver messo in luce che il consumo della cellulosa è correlativo alla sorgente di azoto presente nel mezzo.

Bisogna riconoscere che solo con Winogradsky, nel 1929, il problema prese la sua giusta impostazione scoprendosi nelle specie dei nuovi generi *Cytophaga*, *Cellvibrio*, *Cellfalcicula*, gli agenti microbici aerobi effettivamente e profondamente cellulositici. Ed anche sicuramente cellulositici poichè la loro azione si può seguire a mezzo di colture pure su substrati al silico-gele ove è assente — all'infuori della cellulosa sotto forma di carta o di cotone — ogni traccia di sostanza organica comprese le piccole quantità che possono portarsi con i materiali di innesto.

A margine delle ricerche indirizzate al rinvenimento dei microbi cellulositici stanno quelle (e in parte se ne è riferito) intese a dimostare l'azione demolitrice dei funghi. Verso questo gruppo di microbi gli AA. si rivolsero partendo forse dalla convinzione — come qualche reperto insinuava — che il processo degradativo della cellulosa si manifestasse anche aerobicamente, e dal momento che specie aerobiche di batteri non erano conosciute.

I risultati di questi AA. che portavano a concludere R. Sartory, nel 1929 (14), proprio quando doveva comparire il lavoro di Winogradsky: « La dégradation cryptogamique de « la cellulose dans la nature est un phénomène « d'un ordre encore beaucoup plus vaste que « la dégradation bactérienne » oggi ci appaiono suscettibili di attenta revisione poichè: « ...les champignons n'exercent pas un effet « fibrolytique bien marqué, ils ne produisent « point de gel; ...la différence (con i batteri) « est telle que l'on devrait en conclure que « les champignons n'arrivent jamais dans le « sol à attaquer les fibres saines » (Winogradsky) (15).

Forse fu Behrens (16) nel 1897 (per non ricordare che i lavori a pretesi risultati positivi) uno dei primi dopo le segnalazioni di De Bary e di Libert che riguardò i funghi come agenti di demolizione della cellulosa studiando il marciume dei frutti: indicò *Botrytis vulgaris*, *Penicillium luteum*, *Pen. glaucum*, *Mucor stolonifer*, *Oidium fructigenum*.

Indi Haumann (17))1902) segnalò capaci di azione cellulositica *Pen. glaucum*, *Mucor mucedo*, *Cladosporium herbarum*, *Sclerotinia libertiana*, *Botrytis cinerea* e *Aspergillus niger*.

Gli studi di v. Iterson (1904) già si sono ricordati. Schikorra (18) (1906) lavorando con *Fusarium vasinfectum* estrasse dal micelio un enzima attaccante la cellulosa. Fröhlich (1908) siccome trovò su piante morte *Alternaria tenuis*, *Macrosporium commune* e *Hormodendron cladosporioides* credette di concludere che questi funghi sono capaci di sopperire ai loro bisogni in carboidrati unicamente a mezzo della cellulosa (19).

Schaffnit (1912) studiando *Fusarium nivale* cercò di dimostrare che nell'attacco delle membrane cellulari è effettivamente la parete cellulosica che viene attaccata e non le sostanze pectiche come del resto da molti è ritenuto (20). Heller (1917) riprese lo studio con un numero assai grande di *Fusarium* oltre a *Rizoctonia solani*, *Verticillium lateritium*, *Trichotecium roseum*, *Mucor stolonifer*, *Mucor mucedo* e *Pen. glaucum* e pensò sulla scorta dei suoi risultati di concludere favorevolmente (21).

(14) Bäumli, *op. cit.*; e inoltre Sartory R.: *Étude de la dégradation de la cellulose chez quelques insectes xylophages sous l'influence de microorganismes.* Tesi. Strasburgo, 1929.

(15) Winogradsky S.: *Études sur la microbiologie du sol: sur la degradation de la cellulose dans le sol.* Ann. Inst. Pasteur, **43**, *549*, 1929.

(16) Behrens I.: *Beiträge zur Kenntnis der Obstfäulnis.* C. f. B., **4**, *514*, 1897.

(17) Haumann: Ann. Inst. Pasteur, **16**, *379*, 1902.

(18) Schikorra G.: *Untersuchungen über das Verhalten einiger Pilze gegen Hemicellulose.* Flora, **98**, *258*, 1908.

(19) Fröhlich: Jahrbuch f. wissenschaftl. Botanik, **45**, *256*, 1908.

(20) Schaffnit E.: *Der Schneeschimmel u. die übrigen durch Fusarium nivale hervorgerufenen Krankheiten des Getreides.* Landwirt. Jahrbuch, **43**, 1912.

(21) Heller F.: *Untersuchungen über Celluloseabbau durch Pilze.* Diss. Rostock, 1917.

Daszewska (22) (1924) saggiando la decomposizione della cellulosa in terra di brughiera e torbe dopo avere insemenzato con tali materiali i seguenti substrati: pane, carta da filtro imbevuta di l. di Raulin o di Detmer, brodo agarizzato, ecc. isolò un numero assai grande di funghi. La descrizione di questi dà al lavoro interesse micologico; ma dall'esame di esso non appare chiaro il potere citolitico delle forme isolate. La tecnica all'uopo seguita, seppure migliore di quella da altri in precedenza adottata, appare perfettibile.

Fermano l'attenzione, infine, dopo le ricerche della Daszewska quelle della Scuola di Waksman (1924-26). Ma anche per queste sono da farsi le solite riserve di tecnica in quanto chè le esperienze furono condotte con substrati costituiti da carta immersa in sabbia o in infuso di terra arricchiti da aggiunte di sali minerali quando non venne aggiunto anche peptone. L'assenza di quantità, sia pur piccole, di sostanze organiche diverse dalla cellulosa non poteva escludersi.

Quindi, i referti dei ricordati AA. — ancorchè positivi — a noi sembrano tutti infirmabili per vizio di tecnica.

In effetti, la questione del metodo a noi sembra di ordine pregiudiziale. Per esso noi pensiamo che si sarebbe sempre dovuto escludere dal mezzo qualsiasi sostanza all'infuori della cellulosa in fibre capace di essere fonte di carbonio.

Nei diversi adattamenti sperimentali seguiti tale avvertimento mai è stato rispettato. O altrimenti la causa di errore veniva rappresentata dal materiale di innesto costituito da sostanze organiche varie quali strami, torbe, terra (metodo di v. Iterson); oppure infine l'errore poteva dipendere dal sistema soggettivo e non ponderale di valutazione (metodo di Daszewska). Del metodo di Charpentier seguito, leggermente modificato, anche da Waksman già indirettamente si è detto a proposito dei lavori di questi.

Unico metodo, capace di dare valori anche ponderali, che si presti alla ricerca sicura del potere cellulositico dei microrganismi è il metodo di Winogradsky. Con tale metodo in questo Istituto Rossi e Rozzi (23) nel 1934 saggiarono il comportamento di 30 specie diverse di miceti (incluso *Fusarium*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Penicillium*, *Strachybotrys*, ecc.); ma i risultati di queste esperienze che noi stessi abbiamo poi ripetuto ed esteso, sono stati in prevalenza negativi. Poichè, lo sviluppo su carta disposta sui geli si limitò ad un numero assai esiguo di specie; e in ogni caso mai si ebbe produzione di mucosità e geli tali da dare indice di un avvenuto profondo attacco del materiale cellulosico.

A tutt'oggi, quindi, appare fortemente dubbia, certo non dimostrata, un'azione fibrolitica diretta, senza meno profonda, da parte dei funghi quale invece appare determinata dai batteri. E' il caso piuttosto di pensare che l'intervento dei funghi nel complesso processo di decomposizione della cellulosa si limiti a continuare l'opera demolitrice iniziata dai batteri e che quindi più che portarsi sulla cellulosa si porti detta azione sui composti provenienti dalla sua immediata dissoluzione.

Chi ha occasione di ricercare la presenza dei cellulositici nel suolo sa infatti che attorno ai granelli di terra disposti sopra la carta adiacente il gelo i funghi, quando si sviluppano, si sviluppano solo a seguito dell'azione avanzata dei cellulositici. Ed avverte altresì, che l'azione fibrolitica del fungo eventualmente sviluppatosi non è tale da destare attenzione.

Obbiettandosi che certi funghi sono pure capaci di demolire le membrane cellulari può farsi presente che la membrana cellulare contiene sì una grande quantità di cellulosa ma che la sua composizione è talmente complessa da rinvenirsi accanto alla cellulosa pura ossicellulose, emicellulose e altro, unite più o meno a sostanze pectiche sì che è di queste che il fungo verosimilmente si giova per il suo sviluppo. A sviluppo avvenuto non si contesta a questo la possibilità di elaborare enzimi citolitici. Questo, anzi, sembra dimostrato.

(22) Daszewska W.: *Étude sur la desegrégation de la cellulose dans la terre de Brugère et la toerbe.* Tesi, Ginevra, 1924.

(23) Rossi F. e Rozzi: *Su la decomposizione della cellulosa per opera dei funghi.* Boll. R. Ist. Sup. Agrario di Pisa, **10**, 1934.

V. - Rilievi speciologici

1. — *Origine del materiale di studio.*

All'inizio del presente studio partimmo con l'idea di contribuire, appena, allo studio delle cause di deterioramento degli antichi libri. Infatti il primo materiale era costituito da frammenti di questi, frammenti che, molto gentilmente, ci aveva procurato il prof. comm. A. Gallo del Ministero dell'Educazione Nazionale. In seguito, intuita l'importanza dello studio, le ricerche furono estese alle carte più diverse senza limitarsi ai libri antichi o deteriorati; onde esse riguardarono anche libri di recente stampa e carte varie come qui è prospettato:

Libri di antica stampa	sani deteriorati
» di stampa recente	sani deteriorati
Carte del commercio » di cartiera	di diverso tipo avuto riferimento alla tessitura, collaggio, gessaggio, ecc. e di diverso spessore (dalle carte veline ai cartoni).

Una assai grande varietà di carte, adunque, fu presa in considerazione.

2. — *Metodi di isolamento e di coltura.*

Sée per l'isolamento delle sue specie provocò uno spontaneo ammuffimento delle carte disponendole in recipienti sterili rappresentati da piatti porosi sormontati da dischi di vetro o da scatole Petri o da tubi di Roux. Non aggiunse sostanze nutritive ma solo acqua sterile allo scopo di rendere il mezzo necessariamente umido.

Baeumli, assistito da A. ed R. Sartory e da altri seguì due vie diverse: dispose la carta in rotolo entro tubi di Roux contenenti nella parte inferiore quantità sufficienti, a rendere umido l'ambiente, di acqua 1000 + solfato di magnesio e cloruro di sodio 0.5; oppure adagiò la carta su di uno straterello di sabbia contenuto in scatole Borrel e tenuto umido per aggiunte di soluzione formata da acqua 1000, solfato ammonico 2, fosfato monopotassico 1, solfato di magnesio 1, cloruro di sodio 2.

Sibilia, infine, introduceva in un tubo di

Fig. 1. — Fibra di carta attaccata da germi indeterminati

agar inclinato un frammento di carta prelevato con ferri sterili ivi disponendolo in posizione verticale.

Trattandosi di isolare, come gli Aa. ricordati hanno isolato, specie a comportamento eterotrofo, un accorgimento poteva, in fondo, equivalere ad un altro. L'unica avvertenza poteva consistere nel trascurare le specie tipicamente ubiquitarie. Ma assolutamente non rispondenti, bisogna convenire, sono invece questi metodi qualora si vogliano isolare o comunque met-

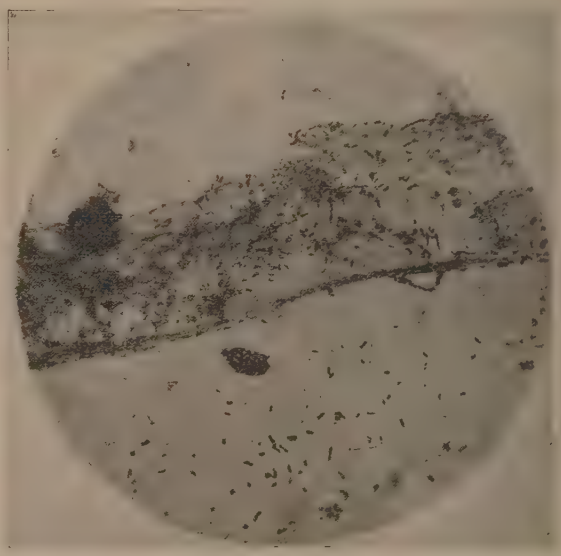


Fig. 2. — Fibra di carta attaccata da germi

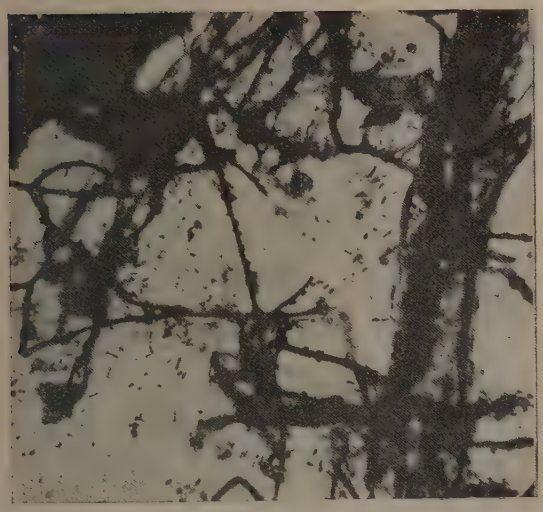


Fig 3. — Vegetazioni di funghi e di schizomiceti in un preparato eseguito con carta alterata

tere in evidenza specie eminentemente cellulofile e qualora non ci si voglia limitare — com'è naturale occorrendo di studiare a fondo il problema — al semplice rilievo delle forme fungine.

Onde è che, senza trascurare di eseguire i comuni citati metodi, abbiamo creduto opportuno di introdurre il metodo delle piastre al silico-gele. Esso ci è stato preziosissimo poichè ci ha permesso di rinvenire costantemente su qualsiasi tipo di carta la presenza di germi tipicamente cellulositici. La preparazione di queste piastre è quanto mai semplice. Si tratta di versare in una comune scatola Petri quantità convenienti di HCl 13 Bé e silicato di sodio 9 Bé in parti uguali. Solidificato il gelo si lava per acqua corrente e poi con acqua distillata fino a eliminazione completa dei cloruri. Indi si aggiungono cc. 10 (trattandosi di una piastra grande) di adatta soluzione di sali (24) oltre a mgr. 36 di KNO_3 e mgr. 20 di $CaCO_3$. Si fa evaporare l'eccesso di acqua e si dispone infine sulla superficie del gelo un disco di carta da filtro a parte sterilizzata a calor secco. In questa si dispongono i frammenti di carta o di libro sotto studio. Oppure anche — ed è oltremodo istruttivo — si può disporre direttamente sul gelo la carta in esame.

Tali furono i metodi di isolamento seguiti. Avute poi le singole specie in coltura pura esse furono coltivate per il tempo necessario allo studio in considerazione delle loro esigenze colturali; e cioè i cellulositici su carta disposta sopra i geli preparati giusta quanto si è detto, i funghi su agar-fagiuoli saccarosato. Trovandosi opportuno di indagare la biologia di questi essi furono seguiti nel loro sviluppo in diversi substrati:

agar-malto
agar d'infuso di lievito pepto-glucosato 1 e 2 (25)
carota in pezzi
l. di Raulin.

Inoltre fu saggiato il loro comportamento di fronte alle sorgenti di carbonio e di azoto e ricercato il pH ottimo di sviluppo. Una volta per tutte ricordiamo le modalità seguite per queste esperienze.

— per la ricerca del pH ottimo fu fatto uso del liquido seguente costituito da:

nitrato potassico	10 —
saccarosio	20 —
fosfato bipotassico	1 —
cloruro di calcio	0.3
solfato di magnesio	0.3
cloruro sodico	0.1
cloruro ferrico	0.01
acqua	1000 —

Distribuito in ragione di cc. 100 in Erlenmeyer da cc. 250 furono aggiustati i singoli pH di partenza a mezzo di aggiunte di acido lattico o di carbonato sodico. Avvenuta la sterilizzazione il pH fu sempre controllato;

— per la ricerca della diversa capacità ad utilizzare le sorgenti di carbonio o di azoto si fece anche uso del liquido di cui sopra naturalmente privato o di saccarosio o di nitrato potassico e addizionato singolarmente di glucosio - saccarosio - galattosio - lattosio - glicerina - mannite 2 % e di peptone - asparagina - nitrato potassico - solfato ammonico 1 %. Indice di maggiore o di minore utilizzazione fu il peso

(24) Acqua 1000; fosfato monopotassico 1; solfato di magnesio 0,5; cloruro di sodio 0,5; solfato ferroso 0,01; solfato manganese 0.01; gocce di alcali potassico fino a pH 7-7,2.

(25) 200 gr. di lievito fu fatto digerire, per 2h, a 100° C. in 1000 di acqua. Filtrato fu aggiunto o peptone 2 % + glucosio 0,5 % (terreno 1) o peptone 0,5 % + glucosio 2 % (terreno 2). Fu agarizzato all'1.5 %.

delle membrane fungine, seccate a 110°C., dopo un determinato numero di giorni di coltura.

Il comportamento delle diverse specie, su cellulosa, fu seguito con il metodo già usato da Winogradsky quale unico — come altrove si è detto — capace di darci indice sicuro dell'attività cellulositica delle singole specie in esame. Varrà la pena di ricordarlo.

Si tratta di disporre su di una piastra al gelo sufficientemente grande (17 cm. circa) un disco di carta da filtro sterile previamente pesato. Il gelo viene prima imbevuto di cc. 10 di soluzione di sali ai quali sono aggiunti gr. 0.200 di nitrato potassico. Evaporato il liquido, sul disco di carta si semina innestando poche gocce di liquido contenente (se trattasi di funghi) spore in sospensione. Si coltiva in termostato fino a che la forma non si sia sufficientemente sviluppata: dai 20 ai 60 giorni. Indi il contenuto della piastra viene diviso in 3-4 porzioni: una è rappresentata dalle fibre rimaste di cui si determina il peso e sulla quale si eseguisce la prova di riduzione del Fehling e la ricerca dell'azoto organico; una seconda è rappresentata dal liquido di lavaggio delle fibre; una terza dall'estratto acquoso del gelo ridotto in fine poltiglia. Di questi due ultimi liquidi si determina separatamente il pH; poi, uniti e portati a volume, in aliquote di essi si ricercano l'ammoniaca, le sostanze volatili a mezzo di distillazione acida, le sostanze riducenti oltre a dosare i nitrati residui e l'azoto organico. Questo si ricerca anche nella sabbia costituente la quarta porzione del materiale primitivo.

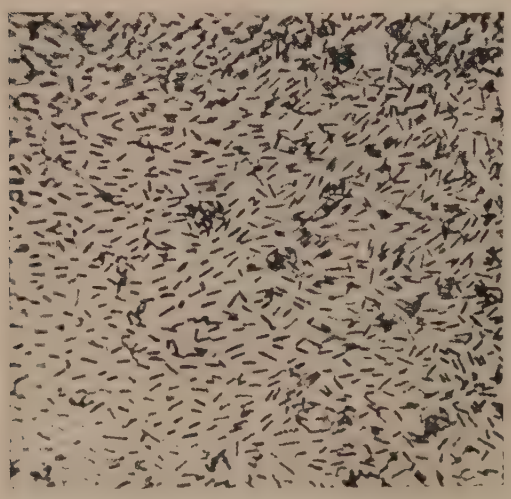


Fig. 4. — Vegetazioni di germi cellulositici

Fig. 5. — Fibra di carta attaccata da germi cellulositici

Con tale metodo, che appare piuttosto laborioso, certo delicato, abbiamo indagata l'attività cellulositica di qualche specie isolata.

Tra gli Schizomiceti, ad es., *Cytophaga Winogradskii* poichè di essa mancava, dopo la nostra prima segnalazione, qualsiasi notizia di carattere fisiologico. Tra i funghi il comportamento su carta si è seguito, più o meno, su tutte le specie isolate.

3. — *Reperti batterioscopici.*

Seguendo entro i primi giorni, con esami microscopici ripetuti, il progressivo sviluppo della microflora spontanea prima ancora che essa si manifesti esternamente non è difficile osservare nelle diverse carte e con gli opportuni mezzi di colorazione (eritrosina fenica rinforzata con violetto di genziana) la presenza di aggruppamenti batterici, evidentissimi all'intorno ed anche nell'interno delle fibre.

Senza qui riportare il dettagliato elenco delle osservazioni che, d'altronde, in gran parte si ripetono, richiamiamo l'attenzione sopra alcuni fotogrammi (26) i quali chiaramente esprimono quanto sopra si è detto.

La fig. 1, così, ci mostra una fibra di carta

(26) Negative del sig. Mattii su nostri preparati.

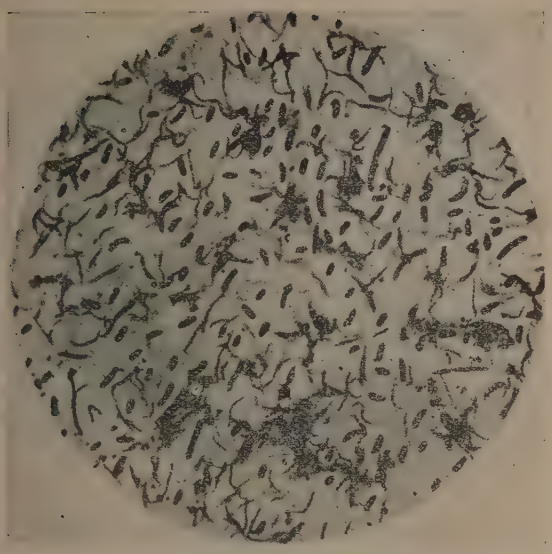


Fig. 6. — Specie di *Cellvibrio* e di *Cytophaga* a forte ingrandimento

preda dell'attacco di piccoli batteri allungati; lo spessore della fibra ci dà indice che l'attacco è appena iniziato. Nella fig. 2 la fibra è in via di disgregazione; per tanto, resa più trasparente, lascia vedere nel suo interno la popolazione microbica costituita, ancora, da vegetazioni batteriche. Passando qualche giorno, l'azione dei batteri sembra affievolirsi ed anche il loro numero si fa minore; ma ad essi — fig. 3 — subentrano vegetazioni fungine. I filamenti micelici, intrecciati, ramificati, si confondono con i resti delle fibre. Tutto lascia credere che lo sviluppo del fungo sia funzione dell'attacco batterico; sotto certi aspetti limitante il primo giacchè i batteri, progredendo lo sviluppo del fungo, tendono a scomparire.

Fig. 7. — Fibra attaccata da una giovane coltura di *Cytophaga Hutchinsonii*, Win.

Ma è piuttosto difficile che, sulla carta al gelo, i funghi (e ciò depone a sfavore delle loro attitudini cellulositiche) si sviluppino con rigoglio come invece avviene negli altri mezzi. Di gran lunga è prevalente lo sviluppo batterico sia sotto forma di colonie pure, sia sotto forma di colonie miste. Sono espressivi al riguardo i fotogrammi di figg. 4, 5 e 6. Il primo (fig. 4) mostra a molto forte ingrandimento una coltura praticamente pura di piccoli lunghi batteri malauguratamente (trattandosi forse di specie nuova) non isolati; il secondo una fibra attaccata da forme un poco più grandi, leggermente curve e tali da far sospettare la loro appartenenza al genere *Cellvibrio*; il terzo una coltura mista di *Cytophaga* sp. socia ad una tipica specie di *Cellvibrio*.

Passati 2-3 giorni le vegetazioni esterne si manifestano con singolare rigoglio consentendo la loro discriminazione specifica.

L'insieme dei singoli reperti batterioscopici relativi alle colture allestite con piastre al silico-gele ha quindi rivelato: 1) la costante presenza, su qualsiasi tipo di carta e di qualsiasi età, di germi cellulositici aerobi; 2) che la loro presenza quantitativa è dipendente dal trattamento subìto dalla carta apparendo assai più ricche le carte non collate o poco collate qualsiasi sia la loro destinazione usuale e il loro spessore in confronto alle altre, e indipendentemente invece dal colore delle carte; 3) la prevalenza delle specie di *Cytophaga* alle quali seguono quelle di *Cellvibrio* mentre appaiono assenti — certo poco rappresentate — le specie di *Cellfalcicula*.

4. — *Indicazione e studio delle forme isolate.*

a) *I germi cellulositici*

Cytophaga Hutchinsonii, Win.
Ann. d. l'Inst. Pasteur, 93, *549*, 1929.
= *Spirochaeta citophaga*, Hutchinson et Clayton in « The Journ. of Agric. Sc. », 9, *143*, 1919.

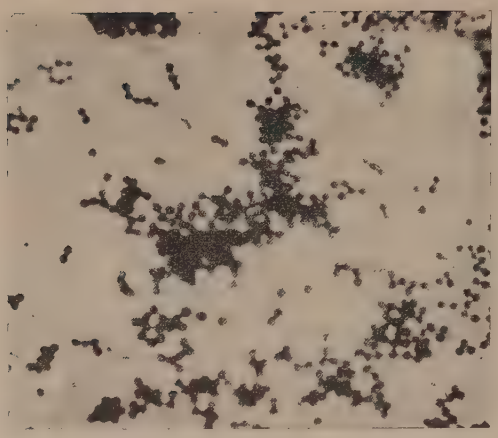


Fig. 8
Forme coccoidi di *Cytophaga Hutchinsonii*, Win.

Comunissima su qualsiasi tipo di carta. Come nel terreno essa è, in confronto delle specie congeneri, la più frequente a rinvenirsi.

Il suo alto potere cellulositico che si esplica a mezzo di azione ossidante già ampliamente è stato dimostrato da Winogradsky.

Il suo comportamento non offre particolari differenze sui diversi tipi di carta eccetto il meno rapido sviluppo sulle carte collate.

Produce tacche gialle che imprimono alla carta un aspetto maculato tipico (il generico « papier piqué » dei francesi). Ora la sua azione è profonda, pur non apparendo estensiva, portando in casi estremi alla formazione di mucosità, di geli, quindi a perforazione; ora per cause varie tra le quali azioni di antagonismo per sopravvenuto e sovrapposto sviluppo di altri germi la sua azione è più limitata e, non formandosi geli, non sopravviene la perforazione. Le macchie rimangono colorate in giallognolo oppure questo viene mascherato da vegetazioni secondarie. Ma di ciò sarà detto più oltre.

Cytophaga aurantiaca, Win.
Ann. d. l'Inst. Pasteur, 93, *549*, 1929.

Un po' meno frequente di *C. Hutchinsonii* è stata rinvenuta su carte del commercio e di cartiera. Essa dà, sulle diverse carte, tacche di color rosa-arancio caratteristico. Rispetto alla precedente specie la vegetazione esteriore di questa appare più limitata e forse di sviluppo più lento.

Cytophaga sp.
Da carta di cartiera.

Colore delle tacche tipicamente roseo notevolmente diverso da quello presentato da *C. rubra*, Win. dalla quale del resto differisce per i caratteri morfologici e dimensionali prossimi invece a *C. aurantiaca*. Tuttavia non abbiamo pensato trattarsi di questa distaccandosi considerevolmente per il colore delle colonie.

Al secondo passaggio la specie è stata perduta; e non essendosi resi possibili ulteriori accertamenti di controllo la segnalazione ha solo valore indicativo. Il suo potere fibrolitico non si manifestò ad ogni modo intenso.

Cytophaga Winogradskii, Verona.
R. Acc. Naz. dei Lincei, 19, *731*, 1934.
Da carta bibula.

Questa specie, già segnalata da noi qualche tempo addietro e poi rinvenuta da altri, forma tacche jaline, arrotondate, mucose, rilevate che imprimono alla carta, dopo breve tempo, aspetto diafano. Trattasi di forme sottili micron 0,3-0,5, lunghe micron 6,6-8,3 ora flessuose ora spiralate. Siccome è facile verificarsi in altre specie di *Cytophaga*, a questa costantemente succede una vegetazione costituita da cocchi di micron 0,8-1 normalmente abbinati, raramente isolati o in leggeri ammassi o in catena senza peraltro assumere in tale

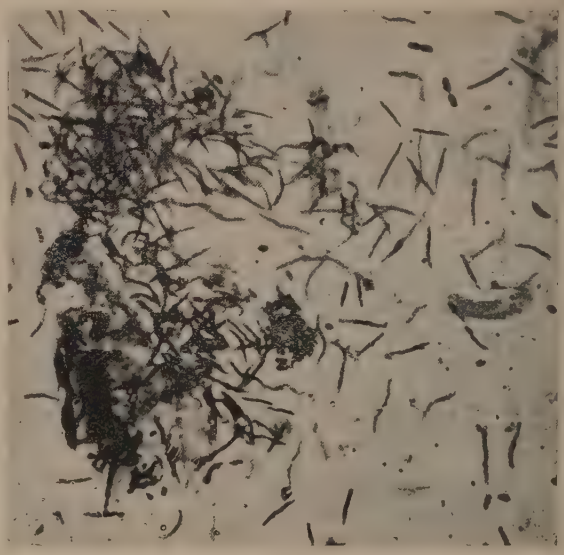


Fig. 9. — *Cytophaga aurantiaca*, Win.

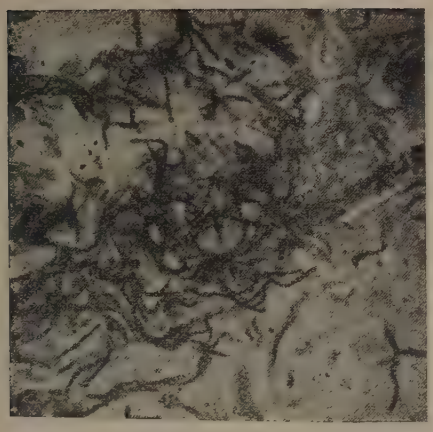


Fig. 10. — *Cytophaga sp.* non determinata

ultimo caso decisivo comportamento streptococcico (27).

Di questa specie non vennero a suo tempo comunicati i caratteri fisiologici. Essi trovano ora, nel presente lavoro, giusto riferimento e pertanto, qui, vengono riportati.

Una prima indagine fu istituita onde stabilire se e fino a quale punto *C. Winogradskii* poteva utilizzare l'azoto di altri composti organici o non organici all'infuori dell'azoto nitrico usato nei mezzi di isolamento. A tal uopo furono allestite grandi piastre al silico-gele procedendo come altrove si è indicato. Solo che, escluso nitrato potassico, fu aggiunto come sorgente azotata solfato ammonico o peptone o asparagina nelle proporzioni dello 0,2-0,5-1 % rettificando la reazione quando era necessario fino a *pH* 7,2-7,4 con aggiunte di alcali potassico al 2 %.

In altre piastre non fu aggiunto alcun composto azotato, in altre, come controllo, nitrato potassico. Partendo da colture giovani in cui alle forme flessuose non erano ancora subentrate le forme coccoidi furono eseguiti diversi passaggi coltivando a 24° C. Nelle piastre al nitrato potassico già dopo 1-2 giorni era palese un qualche sviluppo che poi andò aumentando con il tempo; nelle altre, invece, nessuna vegetazione era evidente all'infuori che nella piastra al peptone 0,2 % ove peraltro lo sviluppo, considerevolmente lento, si mantenne limitatissimo.

Passando alla sorgente carbonata fu sperimentato glucosio, levulosio, maltosio, saccarosio e lattosio aggiunti alla soluzione minerale base presente nitrato potassico nella concentrazione dell'1 %. Con tali soluzioni contenenti zuccheri furono allestite due serie di piastre al silico-gele: una senza carta, l'altra con carta. Fu insemenzato e coltivato come in precedenza; ma nessuno sviluppo si rese palese anche dopo del tempo.

C. Winogradskii, adunque, sembra utilizzare come sorgente azotata solo l'azoto nitrico; delle sorgenti di carbonio si vale solo della cellulosa manifestandosi gli zuccheri, anzi, inibenti lo sviluppo. Tutto ciò si inquadra nelle caratteristiche generiche.

Per la ricerca del potere fibrolitico fu usata una grande scatola Petri e in essa, preparata come di norma, fu adagiato un disco di carta bibula sterile e secca del peso di gr. 0,7282; il nitrato potassico presente fu pari ad un contenuto in azoto di mgr. 27,7: il *pH* iniziale 7,4. Coltivammo a 24-26° C. per 40 giorni dopo di che si procedette alle ricerche del caso. La carta, intanto, dopo il 40° g., si era ridotta nei punti di più intenso attacco in una massa gelatinosa, rilevata, di aspetto mucoso. Con una certa precauzione essa fu tolta dalla pia-

Fig. 11. — *Cytophaga Winogradskii.* Ver.

(27) Verona O.: *Colture spontanee di cellulositici aerobi: Cytophaga Winogradskii n. sp.* « Rend. R. Acc. Naz. Lincei, 19, s. 6ª, 1937.

stra, lavata con acqua fredda, a parte conservata (liq. 1), fino alla prova negativa con nitrato di argento, reattivo di Nessler e difenilamina solforica; quindi seccata e pesata: rimasero gr. 0,256 con una diminuzione, dunque, del 64 % circa. In una parte di questa e cioè su gr. 0,102 fu eseguita la prova di riduzione del Fehling che risultò negativa; nei rimanenti gr. 0,154 fu determinato l'azoto organico rintracciandone mgr. 4,2 ossia mgr. 6,9 della quantità totale, ossia anche il 2,6% circa.

Il gelo rimasto fu seccato, ridotto a polvere finissima ed esaurito con acqua bollente (liq. 2) fino a reazione negativa dei cloruri, nitrati, ammoniaca.

L'estratto delle fibre (liq. 1) si presenta incoloro, opalescente: $pH=7,3$; l'estratto della sabbia (liq. 2) è ugualmente incoloro e opalescente: $pH=7,9$. Ambedue vennero portati a cc. 500. Saggiati con il reattivo di Nessler dettero reazione appena avvertibile; positiva fu invece la reazione con difenilamina solforica. Onde fu cercato di dosare l'azoto nitrico (che rappresentava quello rimasto nella coltura) che risultò pari a mgr. 9,6. Ne vennero consumati, quindi, mgr. 18,1 circa cioè il 3,8 % della cellulosa scomparsa.

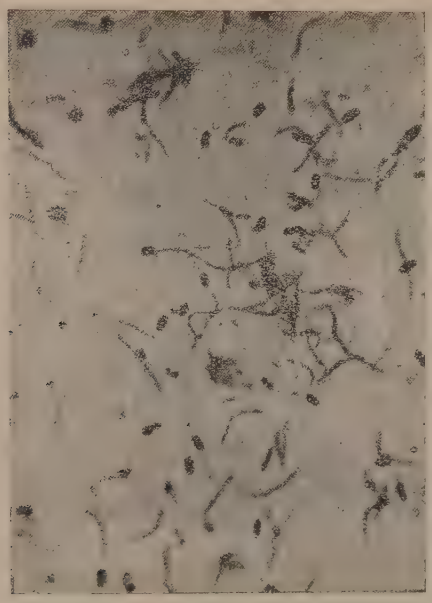


Fig. 12. — *Cytophaga Winogradskii*. Ver. — Le vegetazioni flessuose scompaiono mentre incominciano ad apparire le vegetazioni secondarie

Successivamente 100 cc. del primo e 100 cc. del secondo linquido furono sottoposti alla distillazione acida aggiungendo 10 cc. di H_2SO_4. Raccolti 150 cc. di distillato in esso non fu rintracciata la presenza di sostanze volatili. Quindi in 200 cc. dei due liquidi vennero ricercate le sostanze riducenti: il referto fu negativo. E ancora negativo saggiando con il Fehling lo stesso liquido idrolizzato.

Infine — ultime prove — fu cercato di dosare l'azoto organico rimasto nella sabbia e nei liquidi 1 e 2. Nella sabbia risultò assente; nei liquidi fu pari a mgr. 10,3.

Il bilancio dell'azoto, quindi, così può riassumersi:

Azoto iniziale			27,7
» ritrovato:			
nitrico			9,6
organico	nelle fibre		6,9
	nel liquido		10,3
	nella sabbia		—
	Totale . . .		26,8

La differenza in meno di mgr. 0,9 è dovuta probabilmente a piccole quantità di ammoniaca non determinate e a piccole quantità di azoto organico nella sabbia sfuggite alla valutazione.

Cellvibrio ochracea, Win.
Ann. d. l'Inst. Pasteur, 93, *549*, 1929.

Da carte varie solo o, qualche volta, socio a *Cytophaga* sp. E', nel genere, una delle specie più frequenti. La sua azione, sulle carte è meno profonda delle *Cytophaga* ma più invadente. Le tacche che origina non hanno contorno ben netto ma confuso e di intensità colorante degradante.

Cellvibrio flavescens, Win.
Ann. d. l'Inst. Pasteur, 93, *549*, 1929.

Da carte non collate.

E' un po' meno frequente della specie sopra ricordata.

Cellfalcicula viridis, Win.
Ann. d. l'Inst. Pasteur, 93, *549*, 1929.
Da carta bibula.

Fu rinvenuta una sola volta. Non sembra, insieme alle altre specie congeneri, molto frequente.

Riassumendo, sette specie diverse di cellulositici sono state rinvenute presenti nelle comuni carte sia del commercio che di cartiera, di antica o di recente data di fabbricazione. Circa la frequenza ove si rinvengono stanno in testa le carte non collate di fabbricazione recente. Seguono le altre.

b) *I funghi*

Chaetomium elatum Kze et Schm. e *Chaetomium Kunzeamum* Zopf.

Nel genere *Chaetomium* si rinvengono diverse specie qualificate quali carticole. Vero è, però, che molte di esse facilmente si isolano anche dal suolo siccome da detriti o resti vegetali in putrefazione. In genere è più facile per quanto si riferisce alla carta che si rinvengano in carte di qualità mediocre od anche in cartoni.

Molte di queste specie sono abbastanza bene studiate e definite. Tuttavia di altre specie è sentito il bisogno di una revisione (nonostante le monografie tanto interessanti quanto però antiche di v. Tieghem, Zopf, Oltmann) revisione resa interessante dall'abbondante materiale che in questo fratempo si è venuto raccogliendo.

Chaetomium elatum Kze et Schm. forma su agar-fagiuoli zuccherato una vegetazione estesa costituita da micelio bianco feltroso. In seguito assume in parte aspetto bianco-grigiastro mentre nella parte centrale della colonia si differenziano numerosi periteci globosi, superficiali, non densamente aggregati, neri, di micron 160-240 circa. Il substrato rimane di colore invariato.

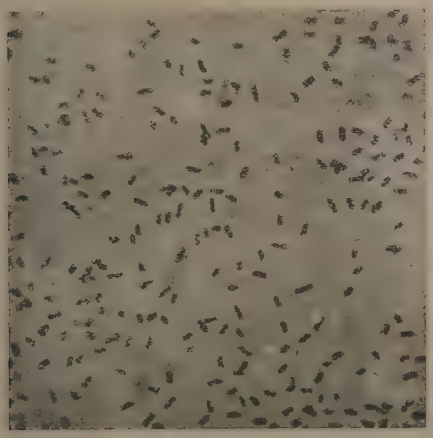


Fig. 13. — Vegetazioni secondarie di *Cytophaga Winogradskii*. Ver.

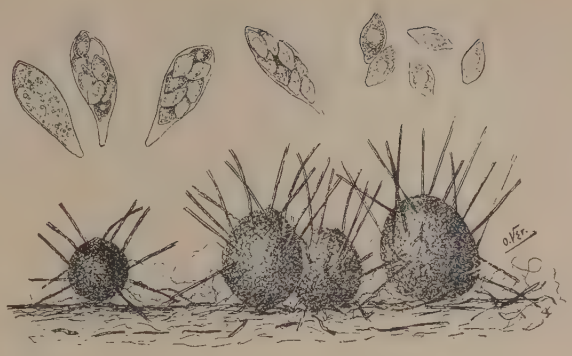


Fig. 14. — *Chaetomium elatum*. Kze et Schm.

Su carota vegetazione di non rapida crescita, in parte biancastra in parte color giallo limone costituita da ife o sottili, jaline, di micron 1,8-2,2 di diametro o più grosse, subjaline o giallastre di micron 3,2-3,6. La fruttificazione si compie entro il 5°, 6° giorno: al 15° giorno il pezzo è ricoperto quasi completamente di periteci superficiali, gregari, di color grigio-brunastro misuranti micron 300-375 circa.

Su agar lievito pepto-glucosato al 5° giorno vegetazione feltrosa, grinzosa, bianca. Il micelio aereo è sottile, jalino, ramificato; quello profondo è jalino o leggermente giallognolo, più grande, irregolare, a setti ravvicinati: non fruttifica.

Su agar lievito gluco-peptonato lo sviluppo è più rapido e abbondante: al 15° g. fruttificazione scarsissima. Sul liquido di Raulin originale non sviluppa. Sul liquido di Raulin modificato da Lutz e Queguen lo sviluppo è mediocre, lento. Si forma una membrana non continua, a isolotti, grinzosa, grigiastra senza fruttificare.

Le vegetazioni formatesi nei liquidi contenenti varie sorgenti azotate o carboniate risultarono pesare (a 110° C.) dopo 10 giorni di coltura mgr.

peptone	*105*	glucosio	140
asparagina	87	saccarosio	*171*
KNO_3	64	galattosio	148
$(NH_4)_2SO_4$	72	glicerina	61
		mannite	73

Onde appare che preferibilmente sono utilizzati peptone tra le sostanze azotate e saccarosio tra le carboniate.

Di fronte al diverso esponente idrogenionico si comportò:

pH iniziale	peso delle membrane a 110° C. mgr.	*pH* finale
3,1	18	4,2
4 —	97	5,9
5 —	180	7,2
6,1	191	7,5
7,1	152	7,7
8,2	147	7,7
9 —	135	7,7

Da cui risultò preferire substrati a reazione leggermente acida. Il suo punto metabolico si aggirò su *pH* 7,5. Le membrane che si formarono apparirono feltroso-cotonose più o meno complete, biancastre in mezzi acidi, giallo-verdastre in mezzi alcalini.

I periteci, si è detto, sono globosi, neri, superficiali. Hanno parete relativamente sottile, membranacea, olivaceo-scura. Sono provvisti di ostiolo non sempre visibile perchè non prominente nè rostrato. Sono, all'intorno, e specialmente in prossimità dell'ostiolo, provvisti di setole brune semplici, diritte, non ramose nè spiralate. Schiacciando un peritecio maturo escono fuori numerose spore limoniformi comunque apiculate, a parete liscia, di micron 12,8 × 8-9,6 da prima jaline e granulose poi bruno olivacee con grossa guttula al centro. Esse sono contenute in numero di otto in aschi aparafisati clavati, brevemente pedicellati, di micron 42-54 × 12-16 la cui parete facilmente viene riassorbita.

Chaetomium Kunzeanum Zopf, su agar fagiuoli saccarosato forma una vegetazione biancastra, estesa, vegetazione che assume poi il colore bianco-grigio fino a grigio-verde fuligineo intenso. Il substrato non assume particolari colorazioni.

Su carota vegetazione bianco-grigiastra non molto estesa all'inizio costituita da micelio regolare, jalino, largo sino a micron 3,2: al 15° g. il pezzo è completamente ricoperto di periteci densamente gregari bruno-neri con sfumature olivacee.

Su agar all'infuso di lievito pepto-glucosato vegetazione bianca, delicata, leggermente cotonosa, grinzosa. Fruttificazione assente.

Su agar all'infuso di lievito gluco-peptonato vegetazione abbondante, grinzosa e profonda, prima bianca indi grigio-olivacea per il differenziarsi di periteci superficiali, gregari, di colore rosso bruno. Micelio irregolare, involuto, a setti ravvicinati.

Sul liquido di Raulin originale non sviluppa. Sul liquido di Raulin modificato (neutro) forma membrana non completa, grinzosa, biancastra.

Circa il comportamento nei diversi substrati contenenti varie sorgenti azotate e carboniate risultò:

Peso delle membrane a 110° C. dopo 10 g. di coltura

peptone	*148*	glucosio	*175*
asparagina	136	saccarosio	167
KNO_3	91	galattosio	160
$(NH_4)_2\ SO_4$	79	lattosio	164
		glicerina	94
		mannite	62

Sembrò quindi utilizzare bene il peptone come sorgente azotata e il glucosio come sorgente carboniata. Non profonde variazioni nella struttura.

Saggiato il suo comportamento di fronte a substrati a diversa concentrazione idrogenionica risultò:

pH iniz.	peso delle membrane a 110° C. mgr.	*pH* fin.
3,1	36	
4	82	6,1
5	103	6,7
6,1	*137*	7,3
7,1	94	7,5
8,2	81	7,7
9	72	8,1

Si addice adunque, al suo sviluppo, una reazione leggermente acida. Il punto isometabolico si dimostò aggirare intorno a *pH* 7,5 dimostrando un comportamento pressochè identico all'altra specie.

I periteci sono globosi, talvolta leggermente ellittici, di micron 220-320, muniti di piccolo ostiolo papillato per presenza di numerose setole brune, rette o, più o meno, flessuose non ramificate, a parete spesso leggermente asperula. Sono superficiali, bruni, a parete mem-

branacea, gregarii. Gli aschi sono clavati di micron 32-48 × 12-16, pedicillati, ottosporei con parete facilmente riassorbita. Le spore di colore olivaceo-scuro, e a parete liscia, misurano micron 8-9,6 × 9-13,4 ed hanno forma elittica o subsferica apiculata.

Phoma chartae n. sp.

Isolato da libri antichi e da carte varie.

Su agar fagiuoli in piastra colonia, al 7° g., circolare di 22 mm. di diametro formata da una parte centrale di 10 mm. notevolmente rilevata di colore bruno-olivaceo e da una fascia periferica piatta di colore verde olivaceo.

Micelio costituito da ife di due tipi diversi. Alcune jaline o leggermente colorate in olivaceo, di calibro sottile, settate a lunghi tratti, ramificate, a contenuto molto finemente granuloso. Altre, notevolmente più grandi, sono tipicamente olivacee più o meno; hanno contenuto protoplasmatico fortemente granuloso e vacuolizzato. Di norma sono riunite in fasci. Con l'età il colore si fa più scuro e queste ife assumono aspetto clamidosporioide mentre si fanno ricche di goccie di grasso. Il primo tipo di ife prevale verso la periferia della colonia; il secondo in corrispondenza della parte interna, rilevata.

Resta evidente la formazione di picnidi che si differenziano e maturano assai lentamente in profondità della colonia in aderenza al substrato.

Su agar fagiuoli in tubo sviluppa una vegetazione assumente analogo aspetto che in piastra. Formazione di picnidi piuttosto tarda ma abbondante.

Superficiali, più o meno aggregati, brunnei, hanno essi forma sferica e misurano micron 230-360 di diametro. Schiacciati emettono una quantità considerevole di spore bacillari jaline di micron 2,8-3,2 × 5,1-6,4.

Su carota sviluppo relativamente lento di colonia bruno-olivacea più densa e rilevata nel punto di innesto. Micelio come in agar fagiuoli. Formazione abbondante di picnidi, con il tempo, superficiali, bruno-neri, sferici, di micron 380-680 contenenti spore bacillari jaline di micron 2,8-3,2 × 5,1-6,4. Con il tempo notasi il dissolvimento pectico delle pareti della carota.

Su malto sviluppo lentissimo. Al 7° giorno vegetazione biancastra molto scarsa strisciante e approfondentesi nel substrato. Micelio aereo molto scarso, jalino, pressochè uniforme di micron 3-3,2 di calibro non sempre regolarmente settato. Presenza di clamidospore, molte in via di differenziazione, di forma e dimensioni non costanti, intercalari o laterali. Al 20-30° giorno sviluppo notevolmente più esteso di vegetazione aerea di colore bianco-grigiastro al verde olivaceo. Assenza di fruttificazione.

Su agar all'infuso di lievito peptoglucosato vegetazione cuoriacea, limitata, consistente, aderentissima al substrato, di colore brunastro. Micelio anche bruno, grosso, irregolare a setti ravvicinati. Non formazione di picnidi al 30° giorno.

Su agar all'infuso di lievito gluco-peptonato aspetto esteriore come sopra. Micelio jalino o bruno chiaro, sottile, variamente settato e ramificato. Al 30° giorno assenza di fruttificazione.

Su carta differenziazione rapida di picnidi superficiali, globosi, bruno-neri di micron 380-600. Le spore, bacillari, jaline, misurano micron 2,8-3,2 × 5,1-6,4.

In liquido di Raulin sviluppo lento di coperta grigiastra, a isolotti più o meno confluenti. In l. Raulin neutro sviluppo un poco superiore di colonie costituenti membrana non unita ma consistente, di colore ocraceo. Micelio in ogni caso spesso, con frequenti setti e ramificazioni.

Coltivato in presenza di varie sorgenti azotate e carboniate risultò preferire asparagina e glucosio mentre risultò favorire la fruttificazione, tra le sostanze azotate, il nitrato potassico. Infatti:

Peso delle membrane a 110° C. dopo 10 g. di coltura; mgr.

peptone	116	glucosio	*165*
asparagina	*294*	saccarosio	75
KNO_3	142	galattosio	135
$(NH_4)_2\ SO_4$	65	lattosio	132
		glicerina	40
		mannite	115

D'altra pare, l'esame microscopico rivelò:

Asparagina: sviluppo notevole di membrana non continua, fortemente grinzosa, con vegetazione risaliente lungo le pareti del reci-

piente di colore verde oliva scuro. Non presenza di picnidi.

Peptone: comportamento comparabile a quello in nitrato potassico.

Nitrato potassico: sviluppo mediocre limitato verso l'orlo del recipiente. La vegetazione, tendente a risalire lungo le pareti del recipiente, è di colore verde oliva scuro e presenta differenziati e in via di formazione numerosi picnidi.

Solfato ammonico: sviluppo mediocre di vegetazione color verde-bruno. Non formazione di picnidi ma presenza di numerose forme clamidosporiche.

Glucosio: sviluppo di vegetazione verde oliva, densa, grinzosa, non continua, scarsamente risaliente: formazione di picnidi scarsa.

Saccarosio: sviluppo limitato di scarsa coperta giallo-verdastra. In seno al liquido coloniette natanti, bianche o griseole. Fruttificazione c. s.

Galattosio: come in saccarosio salvo il colore ocraceo della membrana.

Lattosio: coperta continua abbanstanza liscia di colore grigio-verdastro con sfumature grigio-violacee. Fruttificazione molto scarsa.

Glicerina: coperta quasi continua ma sottile, grigio-verde chiaro. In seno al liquido, verso il fondo, coloniette natanti. Non fruttificazione.

Mannite: sviluppo mediocre di coperta grinzosa non continua di colore grigio-verde più o meno scuro con sfumature giallastre. Fruttificazione scarsa lungo le pareti del vetro ove la vegetazione risale.

Saggiato il suo comportamento di fronte a substrati a diversa concentrazione idrogenionica risultò:

pH iniz.	Peso delle membrane a 110° C. mgr.	*pH* finale
3,1	12	3,8
4	*195*	7,3
5	183	7,4
6,1	167	7,2
7,1	141	7,4
8,2	126	7,4
9	114	7,6

Il *pH* preferito appare essere, adunque, 4 e il suo punto isometabolico aggirarsi intorno a *pH* 7-7,5.

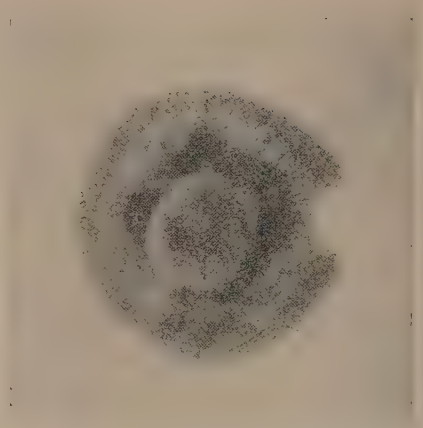


Fig. 15. — *Phoma chartae n. sp.*
Aspetto della colonia su agar-fagiuoli al 12° g. di coltura.

Sopra la carta tre diverse specie di *Phoma* sono state descritte:

Phoma chartarum B. et C. - North Amer. Fungi n. 390, in Sacc. Syll. III, p. 168;

Phoma charticola Speg. F. Arg. Pug. n. 99, in Sacc. Syll. III, p. 168;

Phoma sp., f.c. di *Alternaria polymorpha* Planchon in L. Planchon (*Influence de divers milieux chimiques sur quelques champignons du groupe des dématiées*. Thèses. Paris, 1900) e in P.Sée, op. cit.

A nessuna di queste la specie nostra sembra comparabile, ammessa possibile una comparazione, date le succinte diagnosi che accompa-

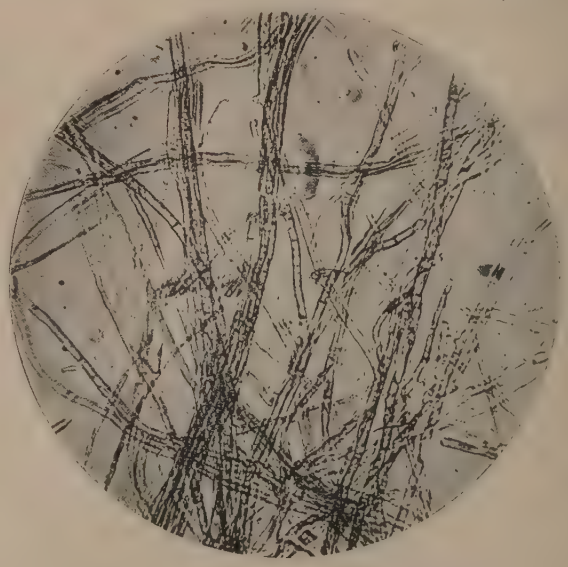
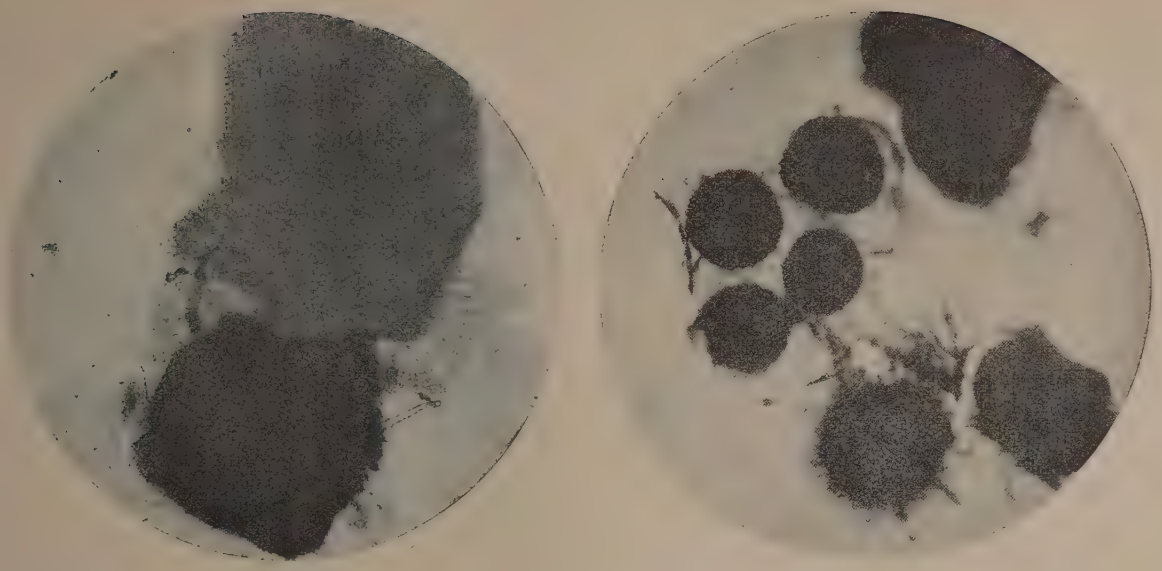


Fig. 16. — *Phoma chartae n. sp.* Micelio.



Figg. 17-18. — *Phoma chartae n. sp.* Picnidi (ingr. 120 e 90 diam.)

gnano le prime due specie, diagnosi che non permettono neppure, a rigore, di tenere le due specie distinte (28). La terza è meglio individuabile ed è caratterizzata dal presentare picnidi variamente grandi, da micron 20-30 a micron 250-350, sferici o un poco allungati o irregolari di colore variabile dal giallo e giallo-bruno al bruno e nero. Contengono spore di micron 2-3 × 5-7 avvolte da una massa gelatinosa. Essa è la forma picnidica di un'*Alternaria* (*A. polymorpha*). Essendo dubbio, quindi, che la nostra specie si identifichi con *Phoma chartarum* B. et C. e *Ph. charticola* Speg.; escluso trattarsi di *Phoma* sp. Planchon — che denomineremo *Phoma polymorpha*, n. nom. — diamo la specie descritta come nuova fissando nella seguente diagnosi i principali caratteri:

Phoma chartae, n. sp.

In agaro culta coloniis ab initio griseolis deinde brunneo-olivaceis. Mycelio hyalino v. subolivaceo longe septato, tenui, micron 2,4-2,8 *crass., intus minute granuloso, socio mycelio crassiore, micron* 3,2-3,6 *crass., olivaceo, dense vacuolato, plerumque fasciculato. Picnidiis superficialibus, sparsis v. subgregaris, globosis, nigris, micron* 230-360 *in agaro et micron* 380-600 *in charta; contextu pseudo parenchymatico, brunneo-olivaceo. Conidii shyalinis, minutis, ellipticis v. subovatis, micron* 2,8-3,2 × 5,1-6,4 *dense conglobatis. Conidiophoris dense stipatis, hyalinis, simplicibus, bacillaris, apicem versus obtusis, micron* 6,4-8,2 *longis, micron* 2,4-2,8 *cr.*

Hab. *in charta vetusta et charta juniora, locis variis producta.*

Cephalosporium Ciferrii n. sp.

Isolato da carte di scadente qualità e da cartoni.

Su agar fagiuoli forma una vegetazione liscia, di aspetto membranaceo ma di consistenza coriacea molto aderente al substrato, di color

(28) *Phoma chartarum B. et C.* « Sparsa et subiculo tenero byssoideo oriunda; peritheciis sparsis, sporulis minimis, micron 3 longis, subinde in cirrum expulsis ». Hab. in charta alba, Alabama in Am. bor.

Phoma charticola Speg. « Peritheciis sub superficialibus, lenticularibus, minutis, 80-90 micron diam., atris, ostiolo impresso perforatis, membranaceis; contextu parenchymatico, fuligineo; sporulis ellipticis, 4-5 × 2-2.5, utrinque obtusiusculis et 1-guttulatis, hyalinis ». Hab. in charta stercorata putrescente in nemorosis de la Recoleta in Argentina.

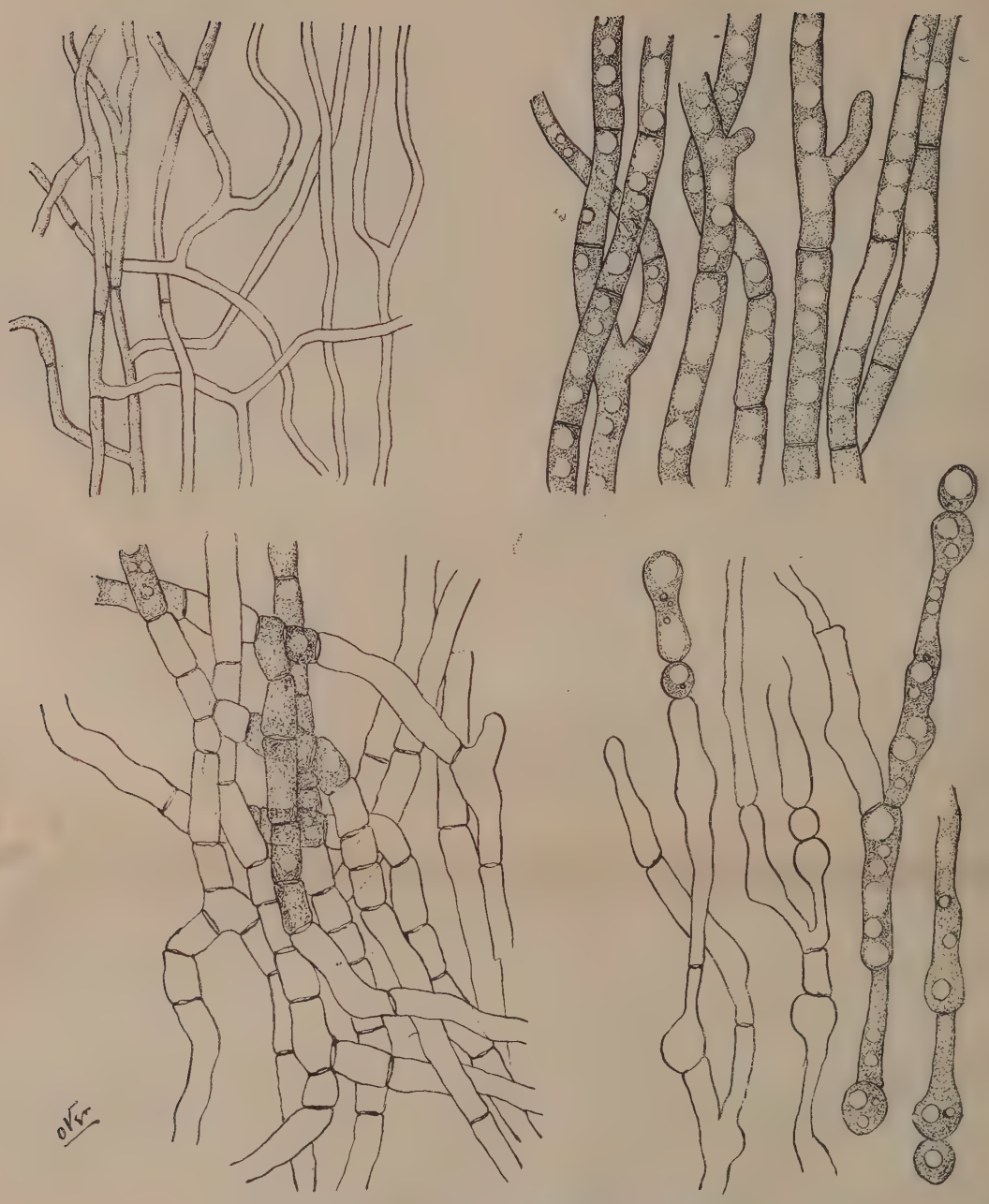


Fig. 19. — *Phoma chartae n. sp.* Vari aspetti del micelio.

rosa salmone piuttosto chiaro all'inizio indi decisamente rosa. In altri substrati l'aspetto non appare dissimile. In agar lievito pepto-glucosato si hanno abbozzi di formazioni coremoidi al centro dello striscio. In agar lievito glucopeptonato tali formazioni appaiono bene sviluppate fino a raggiungere mm. 1-3 di altezza. In liquido di Raulin originale non sviluppa; in quello modificato (neutro) sviluppa lentamente una membrana bassa, fioccosa, biancastra: micelio normale e fruttificazione anche con produzione di conidi cilindracei, ellittici o subovali in grande prevalenza continui. Non esplica particolari attività fermentative. Delle sor-

genti azotate sembra utilizzare di preferenza il peptone e delle carboniate il glucosio-saccarosio-galattosio siccome risulta dal seguente prospetto:

Peso in mgr. delle membrane a 110° C. dopo 10 g. di coltura

peptone	*153*	glucosio	*203*
asparagina	127	saccarosio	197
KNO_3	99	galattosio	198
$(NH_4)_2\ SO_4$	86	lattosio	145
		glicerina	87
		mannite	71

Riguardo poi alla concentrazione idrogeniónica risultò:

a *pH* iniz.	Peso in mgr. delle membrane a 110° C	*pH* finale
3,1	—	—
4	20	5,1
5	113	5,9
6,1	204	6,3
7,1	198	7
8,2	201	7,1
9	178	7,1

Onde la reazione preferita appare essere neutra o leggermente alcalina e il punto isometabolico uguale a circa 7.

Il micelio è costituito da filamenti settati, ramosi, jalini di micron 2,8-3,2 di diametro. Da questi filamenti si dipartono brevi conidiofori generalmente semplici, raramente ramificati, al massimo lunghi 15-25 micron. Talvolta appaiono addirittura subsessili al punto da simulare la formazione dei conidi direttamente sull'ifa principale. Non sono settati ed il loro calibro riprende quello dell'ifa sulla quale si originano. I conidi si formano in corrispondenza dell'estremità libera. La loro formazione è preceduta dal determinarsi di un setto, indi di uno strozzamento che lascia infine il conidio libero. Di poi si forma un secondo e così di seguito fino a raggiungere il numero di 20-40, raramente di più. Essi costituiscono un glomerulo di micron 12-20 di diametro e sono più o meno, od anche non, avvolti da muco a seconda dell'umidità dell'ambiente e della composizione del mezzo.

I conidi sono in genere cilindracei od allantoidei più raramente ellittici od ovoidi con apici rotondi o acuminati, jalini, continui o, in relazione all'età della coltura, 1-settati meno

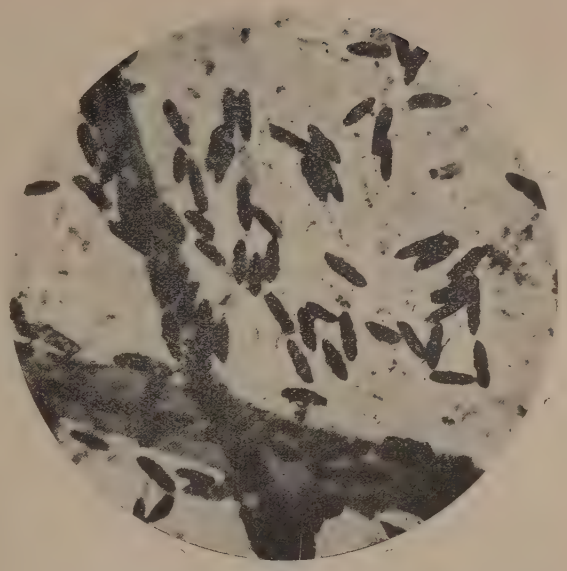


Fig. 20. — *Cephalosporium Ciferrii n. sp.* Comportamento su carta. Notisi l'esclusiva presenza dei conidi, assente il micelio, presso due fibre di carta.

facilmente 2-settati. Misurano micron 2,5-3,2 × 4,8-9,6.

Trasportati in mezzi glucosati germinano rapidamente o producendo per gemmazione apicale o laterale una cellula figlia da cui si origina un tubo micelico, o producendo direttamente quest'ultimo. Quando i conidi sono bisettati la germinazione si verifica da ambo le parti. Gemmazioni in serie di 3 al massimo di 4 cellule sono anche state osservate come è stata osservata la formazione di cellule di norma in numero di 3 all'estremità libera del tubo germinativo.

Il comportamento della specie descritta è tale da farla rientrare nel gruppo degli Ifali mucedinacei. Le caratteristiche poi delle spore, continue ma anche 1-2 settate e, talvolta, tendenti ad incurvarsi « a boudin » suggeriscono di ascriverla al genere *Allantospora* Wakker. Senonchè, la validità di tale genere risulta oggi poco ammessa non apparendo sufficienti i caratteri differenziali che dovrebbero tenerlo distinto da *Cephalosporium* e *Hyalopus*. Neppur chiari, del resto, sono i caratteri che dovrebbero distinguere questi ultimi due generi; e la loro separazione — giustificata dalla formazione o meno di muco conglobante i conidi — è discussa da Richon

FIG. 21. — Fruttificazioni di *Cephalosporium Ciferrii n. sp.*

(1892) (29), Lindau (1907) (30), Ferraris (1910) (31), Buchanan (1911) (32). In effetti la formazione di muco è un carattere assai variabile e del tutto relativo al mezzo ove le varie specie sono coltivate. Quindi, una fusione dei due generi appare oggi giustificata (33).

Tale non appare invece, notiamo di passaggio, la inclusione in *Hyalopus-Cephalosporium* di *Acrostalagmus* (34) sostenuta da Guéguen (35) anche se qualche tipica specie di *Verticillium-Acrostalagmus* presenta talvolta conidiofori semplici come *Cephalosporium*. Trattasi di adattamenti conseguenti il mezzo oppure di specie intermedie quale, nell'ambito di *Cephalosporium*, può essere il *C. subverticillatum* Schulz. et Sacc.

La validità del genere *Allantospora* istituito da Wakker per un fungo isolato dalle radici di canna da zucchero in Giava (*A. radicicola*) già è stata, si è detto, infirmata da Buchanan mentre successivamente (1932) Ciferri ne definiva la posizione riportando *Allantospora* a sottogenere di *Cephalosporium* (36).

Per un ceppo isolato da Tarantelli in un caso di onicomicosi dell'uomo Vuillemin creava *Allantospora onychophilus* che la Aschieri (1932) riportava a *Hyalopus* (37).

La nostra specie, adunque, rientra in *Cephalosporium* subg. *Allantospora* (Wakker) Cif. e in esso la teniamo distinta con il nome di:

Cephalosporium Ciferrii n. sp.

In agaro culta coloniis pallide-roseolis dein roseis, tenaciter coriaceis, substrato adhaerentibus. Mycelio hyalino, ramoso, septato, 2,8-3,2 *micron diam. Conidiophoris simplicibus v. rarius ramosis, subsessilibus, max. micron* 15-25 *longis, capitulis conidiorum gerentibus. Conidiis* 20-40 *rarius ultra glomerulatis mucoso conglutinatis v. sub-pulverulentibus in capitulis micron* 12-20 *diam. consuete congregatis, plerumque cilindraceis v. subreniformibus, rarius ellipticis, ovoideis, apicibus rotundatis v. acuminatis, hyalinis, continuis v.* 1-*septatis, rarius in veteribus cultis* 2-*septatis, micron* 2,5-3,2 *crassis et micron* 4,8-9,6 *longis.*

Hab. in charta commune et in charta crassissima.

Obs. A *Cephalosporio charticola* Lindau valde diversum.

(29) RICHON: *Notice sur le Cephalosporium n. sp.*, Bull. de la Soc. Mycol. de France, 8°, *61*, 1892.

(30) LINDAU, in *Rabenhorst's Krypt.-Fl.* 8°, 1907.

(31) FERRARIS, in *Flora Italica Cryptogama*, Hyphales, 1910.

(32) BUCHANAN P. E.: *Morphology of the genus Cephalosporium with description of a new species and a variety*, Mycologia, 3°, *170*, 1911.

(33) Convenendo di fondere *Hyalopus* e *Cephalosporium* rimarrebbe da stabilirsi quale, dei due nomi, dovrebbe rimanere. Ciferri osserva che, se pur è vero che furono creati contemporaneamente (1839), il primo avrebbe sul secondo il vantaggio della priorità di pagina. D'altra parte la data valida di *Cephalosporium* dovrebbe essere spostata al 1863 epoca in cui apparì la descrizione, per Fresenius, di *C. acremonium* essendo critica la descrizione di questa specie data da Corda.

(34) *Acrostalagmus*, piuttosto, dovrebbe rientrare entro *Verticillium* del quale in conseguenza dovrebbe emendarsi la diagnosi (confr. O. VERONA e A. CECCARELLI, in Phytopat. Zeitschr. 8, *373*, 1935).

(35) GUÉGUEN: *Acrostalagmus Vilmorinii n. sp.*, Bull. Soc. Mycol., 22, *254*, 1906.

(36) CIFERRI R.: *Cephalosporium pseudofermentum n. sp. isolato dalla bocca dell'uomo*, Arch. f. Protistenkunde, 7, *227*, 1932.

(37) ASCHIERI E.: *Ricerche sistematiche e fisiologiche su un Hyalopus causa di onicomicosi.* Atti R. Ist. Bot. di Pavia, 3, 4ªs., *45*, 1932.

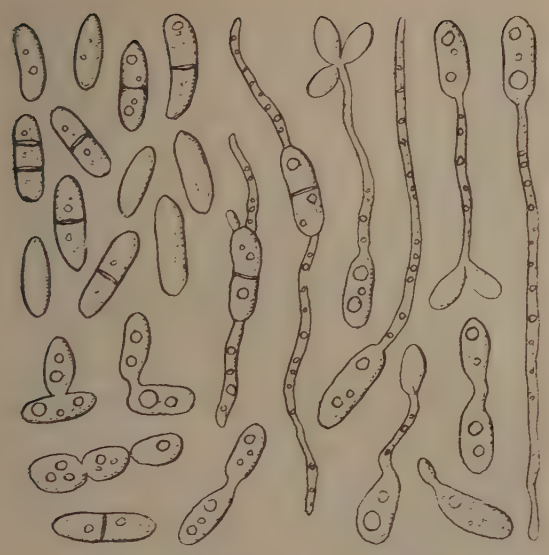


Fig. 22. — Conidi, in parte in via di germinazione, di *Cephalosporium Ciferrii*

Trichoderma lignorum (Tode) Harz.

Isolato da cartone.

La segnalazione di *Trichoderma* tra i funghi carticoli non era stata fatta da altri prima di Sibilia. Noi, dall'abbondante materiale che abbiamo avuto occasione di vedere, abbiamo eseguito un solo isolamento. Nonostante la scarsa frequenza con la quale sembra si rinvenga sulle carte a noi pare che non si debba tuttavia trascurare in quanto è noto come sia facile isolare questa specie dal legno e dalla pasta di legno.

Su agar-fagiuoli in tubo lo sviluppo è rapido. Già al 3° g. la superficie del substrato è coperta completamente d'una vegetazione fioccosa candida che subito passa dopo 24-48*h* a verde giada intenso in seguito a sporificazione.

I conidiofori, generalmente decombenti e di lunghezza assai varia, non si distinguono dalle ife vegetative, jaline, settate. Tali conidiofori portano all'estremità elementi conidiogeni a forma di fiala misuranti grosso modo micron 3,2-4,9 × 6,4-8,1. Essi si trovano in numero di due-tre od anche in numero minore, eccezionalmente maggiore, su di uno stesso punto sopra ramificazioni dell'ifa principale od anche sulla ifa stessa.

Le spore sono perfettamente rotonde, jaline se isolate, verdi se in ammassi, prive di particolari strutture sia interne che parietali: misurano micron 3,2-4,9 di diametro e sorgono alle estremità appuntite delle fiale.

Su carota vegetazione di rapida crescita con caratteri identici a quelli sopra descritti.

Su agar lievito pepto-glucosato vegetazione sottile, bianca. Micelio aereo scarso, esile, regolare, di micron 2,5-3,2 di calibro, jalino, più o meno uniformemente settato. Micelio profondo più grosso fino a micron 4,9 di diametro, più frequentemente settato, notevolmente vacuolato, per presenza vacuoli piccoli, tondeggianti, il che denota una profonda alterazione del processo di ossi-riduzione. Frequente la formazione di clamidospore; assente, anche al 30° g., la formazione di conidiofori.

Su agar lievito-gluco-peptonato vegetazione di rapida crescita grinzosa, bianca. Verso il 3-4° g. sulla parte alta del tubo si inizia la sporificazione che si rende palese per una colorazione giallo-suola scarsamente tendente al verde. Tale sporificazione permane limitatissima mentre abbondanti, invece, si rinvengono clamidospore rotonde a grossa parete, laterali o intercalari, grandi fino a micron 9-12 di diametro.

Su liquido di Raulin originale vegetazione di lenta crescita, scarsa, formante coperta bassa fioccosa, ricadente. Assente è ogni fruttificazione conidica, presenti invece numerose clamidospore.

Su l. di Raulin modificato vegetazione di lento sviluppo ma abbondante, normalmente sporificata.

Saggiato il suo comportamento di fronte a varie sorgenti carboniate e azotate risultò:

Peso in mgr. delle membrane a 110° C. dopo 10 g. di coltura

peptone	*250*	glucosio	*272*
asparagina	207	saccarosio	*266*
KNO_3	141	galattosio	252
$(NH_4)_2 SO_4$	138	lattosio	254
		glicerina	99
		mannite	86

Onde appare utilizzare bene il peptone tra le sorgenti azotate e glucosio e saccarosio tra le carboniate.

Riguardo poi allo sviluppo in mezzo diversamente acido o alcalino risultò:

a *pH* in'z.	Peso d. membrane a 110° C. dopo 10° g. di coltura; mgr.	*pH* finale
3,1	180	5,3
4	*257*	6
5	142	7,1
6,1	108	6,9
7,1	16	7,2
82	—	—
9	—	—

Il che dimostra che *Trichoderma lignorum* preferisce un mezzo decisamente acido. Il suo punto isometabolico si aggirò intorno a *pH* 7.

Gliocladium roseum (Link?) Bainier.
= *Clonostachys araucariae v. rosea* - Preuss.

Isolata da libri antichi ove forma tacche effuse, feltrose, rosacee.

Specie non ancora segnalata tra i funghi carticoli.

Su agar-fagiuoli vegetazione di lenta crescita effusa, feltrosa, di color rosa salmone. Talvolta, con l'età, presenza di formazioni coremoidi.

Micelio costituito da ife jaline, settate, ramificate, intricate, di calibro medio di micron 2,8-3,2. Conidiofori jalini terminanti semplici o 3-4 verticillati. Ramuli conidiogeni di micron 20-40 o anche più, spesso isolati a formare quadri di tipo cefalosporioideo, od anche 2-4 verticillati, settati alla base, assottigliantisi verso l'alto la cui sommità leggermente si ingrossa. Conidi ovali, jalini, di micron 3,2 × 4,8-5,7 riuniti in ammassi (spiciformi?) facilmente dissolventisi nel liquido di montaggio.

Su carota vegetazione bianco-rosata, fioccosa, con abbozzi coremiali. Aspetto morfologico come in agar fagiuoli.

Fig. 23. — *Trichoderma lignorum (Tode) Harz.*

Su agar lievito gluco-peptonato vegetazione consistente, di lenta crescita, con scarso micelio aereo di color rosa salmone carnicino.

Su agar lievito pepto-glucosato sviluppo limitatissimo di colonia grinzosa, tenace, rosea. In questo, come nell'altro substrato, sporificazione nulla ma formazione considerevolmente abbondante di clamidospore grosse, rotonde a plasma granuloso.

Riguardo alla utilizzazione delle varie sorgenti alimentari si ebbe:

Peso in mgr. delle membrane a 110° C. dopo 10 g. di coltura

peptone	140	glucosio	*167*
asparagina	*192*	saccarosio	*172*
KNO_3	135	galattosio	164
$(NH_4)_2\ SO_4$	32	lattosio	151
		glicerina	87
		mannite	98

Risultò quindi preferire l'asparagina quale sorgente azotata e il glucosio-saccarosio quale sorgente di carbonio. Singolarmente scarso fu lo sviluppo in presenza di solfato ammonico.

Da rilevare come in presenza di asparagina la vegetazione, biancastra e consistentissima fosse quasi completamente rappresentata da grosse clamidospore ricche di guttule e di plasma granuloso: assente la fruttificazione conidica (A di fig. 25). In presenza di peptone la vegetazione, ancora consistente, leggermente grinzosa, biancastra, riuscì ma scarsamente a fruttificare. Il micelio si presentò involuto, irregolare con clamidospore (C fig. 25). Presente nitrato potassico la fruttificazione apparì un poco più abbondante alla superficie della coperta consistente, liscia, bianco-rosea. Il micelio ora si presentò normale ora involuto con abbozzi di formazioni clamidosporiche (B di fig. 25).

Saggiato il comportamento di fronte a mezzi a vario *pH* risultò:

pH iniz.	Peso delle membrane a 110° C. (mgr.) dopo 10 g. di coltura	*pH* finale
3,1	—	—
4	19	5,7
5	87	6,8
6,1	102	7
7,1	*114*	7,2
8,2	94	7,4
9	20	7,9

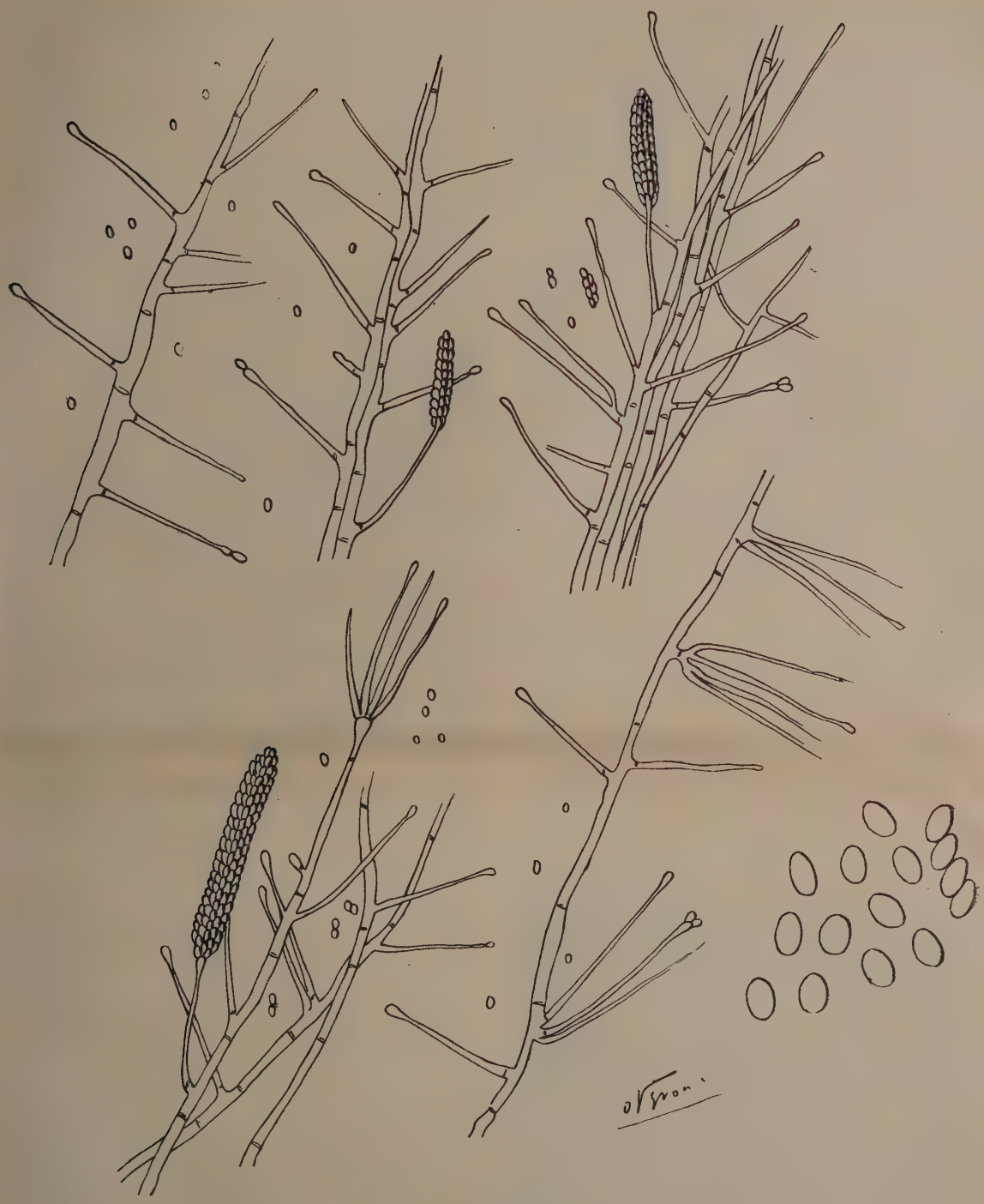


Fig. 24. — Micelio e fruttificazioni di *Gliocladium roseum* (Link) Bainier

Fig. 25. — Vari aspetti colturali di *Gliocladium roseum*

Il *pH* preferito appare aggirarsi intorno a 7 e il punto isometabolico anche uguale a *pH* 7 circa.

I caratteri della specie descritta la lasciano facilmente rientrare entro *Clonostachys Araucariae* var. *rosea* Preuss che riportiamo, seguendo l'opinione di Thom, ormai da molti accettata, a *Gliocladium roseum* (Link?) Bainier.

Coniosporium Perottianum n. sp.

Isolato da carta bibula su piastre al silicogele.

Su agar fagiuoli in piastra al 7° g. di coltura a 28° C. colonia bianca, feltrosa-piumosa di 6 cm. circa di diametro. Dopo 12 giorni il diametro raggiunge i 9 cm. circa.

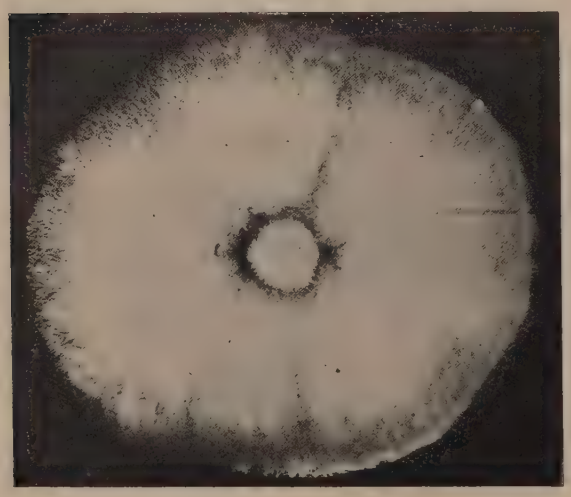


Fig. 26. — Colonia di *Coniosporium Perottianum* su agar fagiuoli dopo 12 g. di coltura a 28° C.

Il micelio aereo è ialino, piuttosto uniforme, frequentemente settato, con ife di micron 2,2-2,8 di calibro.

Il micelio strisciante è un poco più irregolare, più grosso, leggermente olivaceo. Tanto in questo quanto in quello aereo non sono stati osservati nelle condizioni ordinarie particolari organi vegetativi di conservazione. Scarseggiano in quello strisciante e mancano in quello aereo organi di riproduzione. Infatti la sporificazione si compie con quasi esclusiva prevalenza nell'interno del substrato. I conidi si possono trovare inseriti su qualsiasi ifa onde non può parlarsi di conidiofori. Solo in alcuni casi e ciò in relazione all'età si hanno degli abbozzi sorreggenti i conidi.

Di rado essi si allungano fino, in tal caso, a 6-8 micron. I conidi sono da prima jalini; poi assumono colore clorino per passare all'olivaceo o all'umbrino tenue. A maturità soltanto si fanno decisamente più scuri. Misurano micron 9,6-12,8 di diametro. Sono tipicamente rotondi, a parete liscia e con plasma granuloso e guttulato. Solo quando sono in via di maturazione possono in qualche caso presentarsi obovati o subpiriformi.

Su agar fagiuoli in tubo caratteri analoghi a quelli precedentemente descritti.

Su carota vegetazione da prima bianca, feltrosa, espansa; in seguito il feltro si fa scuro di colore atro-piceo. Il micelio è costituito da ife jaline, settate, di micron 3,2 circa di calibro. Conidiofori brevissimi o nulli portanti conidi globosi od obovati o, raramente, subpiriformi, di micron 9,6-12,8 di diametro, a parete liscia, contenuto granuloso, da prima jalini o leggermente colorati indi verde-marrone o bruni più o meno scuri.

Su agar lievito gluco-peptonato sviluppo rigoglioso di micelio profondo sporificato e aereo sotto forma, quest'ultimo, di ciuffi biancastri.

Su agar lievito pepto-glucosato sviluppo lento e limitato. Vegetazione aderente al substrato, scarsissima; quasi assente la vegetazione aerea. Sporificazione tarda, non considerevole.

Su liquido di Raulin notevole formazione di coloniette biancastre natanti in seno al liquido di micelio jalino, sottile, ramificato. In superficie membrana spessa, grinzosa, grigio nera-

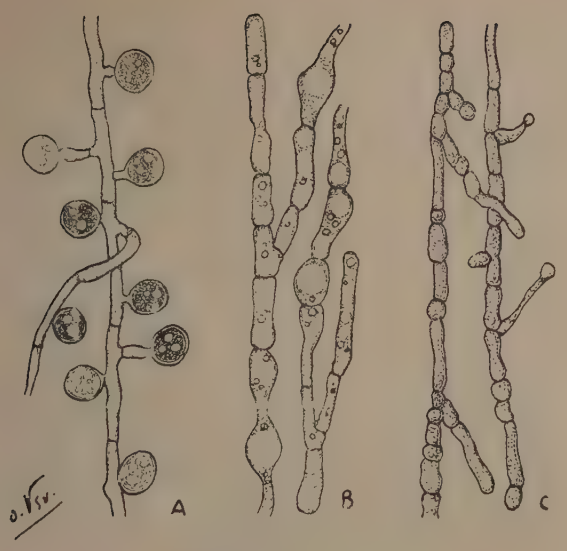


Fig. 27. — *Coniosporium Perottianum n. sp.*
A aspetto nomale; *B-C* aspetto del micelio in presenza di asparagina (*B*) e di mannite (*C*)

stra, addossantesi alle pareti del recipiente costituita da numerosissime clamidospore.

In lq. Raulin neutro sviluppo scarso in seno al liquido; in superficie, abbozzo di membrana giallo-grigiastra, grinzosa, di aspetto cerebroide costituita da numerosissime clamidospore rotonde variamente grandi a plasma granuloso facilmente svuotantesi.

Saggiato il suo comportamento di fronte alle varie sorgenti alimentari risultò:

Peso delle membrane in mgr. seccate a 110° C. dopo 10 g. di coltura.

peptone	139	glucosio	210
asparagina	*236*	saccarosio	*247*
KNO_3	68	galattosio	126
$(NH_4)_2\ SO_4$	76	lattosio	173
		glicerina	69
		mannite	41

Onde asparagina e saccarosio risultano le sostanze meglio utilizzate.

In asparagina lo sviluppo fu rigoglioso per formazione di abbondante coperta grinzosa, velutina, di colore verdastro in superficie e verde oliva scuro in profondità. Micelio jalino o verdastro con abbozzi di formazioni toruloidi e clamidospore. Conidi abbondanti, bruni, di micron 9,6-12,8 di diametro.

In presenza di peptone lo sviluppo fu mediocre, la sporificazione scarsa. Presente nitrato potassico coperta sottile, biancastra. Sporificazione assente ma presenti invece numerose clamidospore. Presente solfato ammonico vegetazione ancora scarsa, a isolotti; micelio ora normale ora toruloide; sporificazione scarsissima.

Lo sviluppo in presenza di vari zuccheri — glucosio, saccarosio, galattosio — fu comparabile. Si formò coperta feltrosa più o meno spessa, grigio-verdastra in superficie con estesi ciuffi biancastri, grigio-olivastro nella parte inferiore. La fruttificazione fu in ogni caso scarsissima. Presente glicerina lo sviluppo si limitò ad una coperta esile, bianco-giallognola. Formazione abbondante di clamidospore ma assenza di sporificazione. Sviluppo ancora scarso in presenza di mannite. Micelio toruloide, sporificazione mediocre.

In substrati a varia concentrazione idrogenionica lo sviluppo si manifestò sotto forma di coperta parziale, grinzosa, verde-bruno scuro ove la reazione era acida (pH 3-4-5) e sotto forma di coperta liscia, a isolotti, di colore giallo-verdastro in mezzo neutro o alcalino (pH 7-8-9).

pH iniz.	Peso in mgr delle membrane a 110° C dopo 10 g. di coltura	*pH* finale
3,1	52	5,3
4	58	5,7
5	63	7,5
6,1	*280*	7,7
7,1	92	7,7
8,2	86	7,9
9	49	7,9

Il pH preferito risultò aggirarsi su 6 e il punto isometabolico su 7,5-7,7.

La specie descritta rientra facilmente entro le Dematiaceae Phaeosporeae Micronemae, tribù Coniosporieae ed è indubbia la sua appartenenza al genere *Coniosporium*.

Entro questo genere si conosce un *Coniosporium papyricola* Lindau (Rabenh. Krypt. Fl. - Hyphomyc. 564, VIII, 1906) ma da questo il nostro ceppo sembra diverso per la forma e di-

Fig. 28. — Misure estreme di conidi in

Coniosporium papyricola
« *conidis ellipsoideis v. ovoidei* . . . . superficie granulosis micron 10-11,5 × 6-7,5 »

Coniosporium Perottianum
« *Conidiis globosis v. ante maturazione saepe subpiriformibus* . . . . *levibus*, micron 9,6-12,8 diam. »

mensioni dei conidi. Per cui teniamo la specie distinta e per tanto la denominiamo:

Coniosporium Perottianum n. sp.

In agaro culta mycelio aereo effuso, lanoso, albo, septato, micron 2,2-2,8 *cr.; mycelio immerso fumoso-brunneo, septato, ramoso, micron* 3,2 *cr. Sine conidiophoris v., rarius, conidiophoris brevissimis usque micron* 6-8 *longis, hyalinis. Conidiis plerumque ex hyphis mycelio profundo assurgentibus, v. subsessilibus, copiosis, globosis v. junioribus saepe subpyriformibus, intus granulosis, guttulatis, hyalinis, deinde olivaceis usque nigricantibus, levibus, micron* 9,6-12,8 *diam.*

Hab. In charta bibula non putrescente.

Obs. Coniosporio papyricolo diverso ob forma et crassitudine conidiorum.

Stachybotris.

Il genere *Stachybotris* comprende specie quasi tutte carticole eccezion fatta, forse, di *Stach. elata* Sacc. e *Stach. socia* Sacc. Sono comunque di facile rinvenimento ovunque siano presenti materiali in decomposizione.

Noi abbiamo isolato dal materiale più diverso numerosi ceppi, ceppi che si possono riferire a quelli contrassegnati, nelle descrizioni, con i numeri 1, 2, 3 e che abbiamo studiato in comparazione a *Stach. atra, lobulata* e *alternans* queste ultime gentilmente favoriteci dal « Centraal Bureau voor Schimmelcultures » di Baarn.

Ceppo n. 1.

Su carota vegetazione delicata, effusa, nera. Micelio sterile costituito da ife jaline o molto leggermente alivacee, ramificate, settate, di micron 3,5 circa di spessore. Conidiofori ora dicotomici, ora semplici, ora variamente ramificati, settati, lunghi micron 35-60, spessi micron 3,5 circa, da prima jalini indi clorini od umbrini fino a bruno scuro specialmente verso l'apice a partire dall'ultimo setto. Talvolta, in quest'ultimo tratto, anche granulosi. Gli ste-

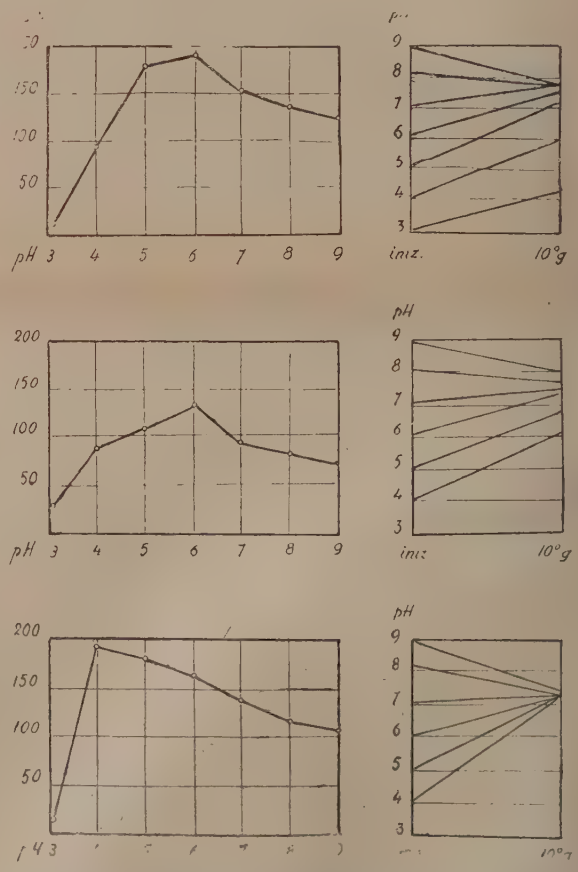


Fig. 29. — La lettura va fatta dall'alto in basso. Influenza della reazione del mezzo e punto isometabolico di: *Chaetomium elatum; Chaetomium Kunzeanum; Phoma chartae*

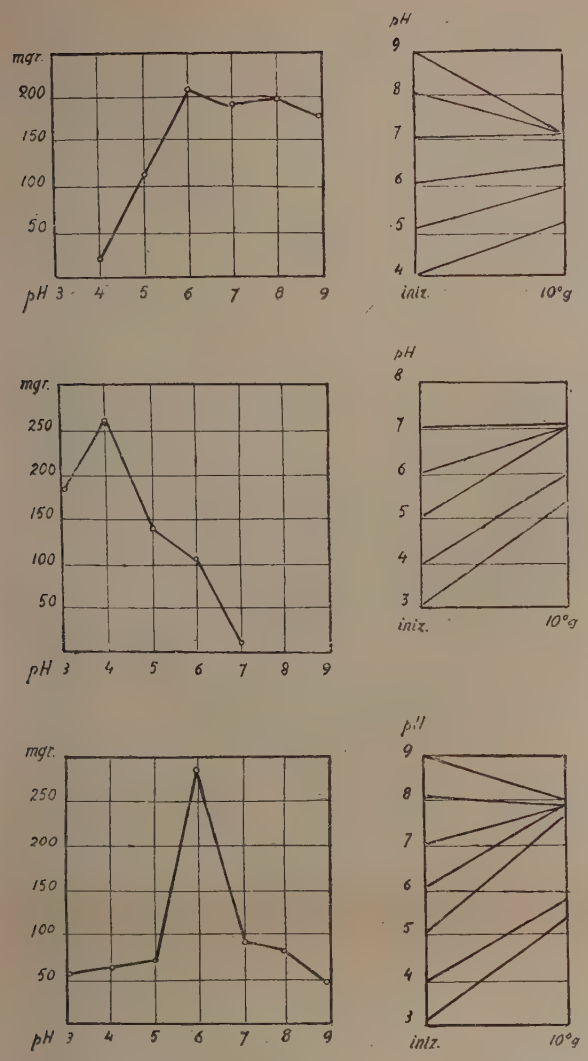


Fig. 30. — La lettura va fatta dall'alto in basso: Influenza della reazione del mezzo e punto isometabolico di: *Cephalosporium Ciferrii; Trichoderma lignorum; Coniosporium Perottianum*

rigmi, di micron 9,6-12,8 × 6 circa si formano in seguito all'ingrossamento dell'apice conidioforico. All'ingrossamento segue la formazione di un setto; indi, accanto al primo, si formano 2-3-4 che rimangono jalini essendo la forma ovata o subpiriforme. In seguito possono originarsi altri rimanendo uniti fino a 6-8, raramente in numero maggiore, mentre assumono colorazione olivaceo-atra. I conidi si formano all'apice degli sterigmi. Da prima sono ellittici di micron 3,2-4,8 × 8,9-9,6, jalini, biguttati, con doppia membrana liscia; dopo si fanno ovali di micron 6,4 × 8,9-9,6, più o meno atri. Le due guttule permangono e, ingrossando o avvicinandosi, possono simulare la formazione di un setto (vedi Fig. 33).

Su agar fagiuoli, in piastra, colonia subrotonda, vellutata, un pò rilevata al centro, di colore da prima grigio-olivaceo in seguito nero fuligineo esclusa una fascia periferica costituita da micelio sterile. Specialmente al centro, formazione facile di coremi bruno-atrei, eretti, di mm. 2-3 di altezza. I caratteri morfologici permangono tali quali sono stati descritti su carota.

In malto sviluppo paragonabile a quello in agar fagiuoli ma più lento.

Su agar lievito pepto-glucosato vegetazione limitata di colore verde oliva più o meno scuro.

Su agar lievito gluco-peptonato come in agar fagiuoli.

Su liquido di Raulin originale non sviluppa. Su l. di Raulin neutro si forma una membrana spessa, grinzosa, biancastra con sfumature rosee. Fruttificazione assente. Presenti, invece, numerosissime clamidospore.

Saggiato il comportamento di fronte a varie sorgenti alimentari risultò:

Peso in mgr. delle membrate seccate a 110° C. dopo 10 g. di coltura

peptone	*223*	glucosio	*214*
asparagina	*218*	saccarosio	*227*
KNO_3	95	galattosio	109
$(NH_4)_2\ SO_4$	80	lattosio	161
		glicerina	175
		mannite	197

Preferisce quindi l'azoto organico e come sorgente di carbonio glucosio e saccarosio; bene però, anche, gli alcool polivalenti.

In genere nei vari substrati si sono formate membrane più o meno continue presenti tal-

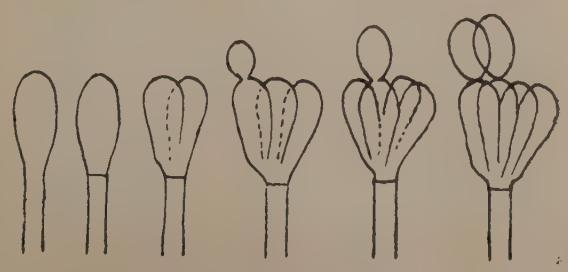


Fig. 31. — Modo di formazione degli sterigmi

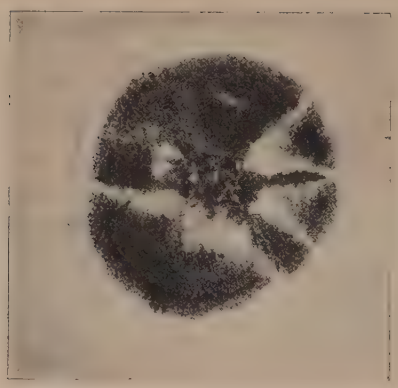


Fig. 32. — Colonia su agar-fagiuoli dopo 12 g. di coltura a 26° C (gr. naturale)

volta vegetazioni fioccose in seno al liquido. Sporificazione piuttosto tarda, presenza in quantità maggiori o minori di clamidospore intercalari o apicali, rotonde od obovate, jaline o fuliginee.

Di fronte a mezzi a varia concentrazione idrogenionica il comportamento fu il seguente:

pH iniz.	Peso in mgr. delle membrane a 110° C. dopo 10 g. di coltura	*pH* finale
3,1	—	—
4	16	5,4
5	142	6,7
6,1	137	6,9
7,1	115	7
8,2	26	7,2
9	19	7,9

Il pH preferito fu dunque circa 5-6 e il punto isometabolico uguale presso a poco a pH 7.

Ceppo n. 2.

Su agar fagiuoli vegetazione feltroso-vellutata nera con scarse aree bianche costituite da micelio sterile. Dopo del tempo tutta la vegetazione assume colore nero-fuligineo.

Micelio regolare, jalino, non presentante particolari strutture. I conidiofori partono da qualsiasi ifa micelica. Variamente ramificati, hanno un portamento suberetto e misurano in media micron 19-22,5 con minimi frequenti di micron 9,6 e massimi, molto raramente, di micron 32.

Il calibro si aggira sui micron 3,2-4,1. Sono settati, alla base jalini, verso l'apice fuligineibruni, talvolta granulosi. Alla sommità portano 4-5 od anche 6-8 sterigmi a forma più larga alla sommità, più stretta alla base, di micron 4,8 × 6,4-9,6, jalini prima poi più o meno olivaceo-fuliginei raramente liberi, in genere riuniti. Portano conidi continui, ellittico-ovali, con due guttule per lo più piccole, fuliginei a maturazione, misuranti micron 6,4 × 8-9,6.

Su malto, ad eccezione dello sviluppo, più lento, caratteri analoghi ai precedenti.

Su carota sviluppo di vegetazione biancastra, poi nera, invadente tutto il pezzo. Abbozzi di formazioni coremoidi. Caratteri morfologici come in agar fagiuoli eccetto i conidi un poco più lunghi: micron 6,4 × 9,6-12,8.

Su agar lievito gluco-peptonato e pepto-glucosato caratteri comparabili a quelli in agar fagiuoli.

Comportamento, di fronte alle varie sorgenti alimentari, simile al ceppo n. 1.

Ceppo n. 3.

Su agar fagiuoli vegetazione di rapida crescita, effusa, atra, con area bianca alla periferia per presenza di micelio sterile avente caratteri identici a quelli dei ceppi 1 e 2. Conidiofori inseriti variamente sulle ife miceliche, semplici o ramificati dicotomicamente o alterni. Misurano in media micron 32-48 di lunghezza e micron 3,2-3,5 di larghezza. Sono settati e l'ultimo tratto è olivaceo-bruno più o meno intenso, spesso granuloso-echinato. Alla estremità portano 2-4 o anche 5, raramente più sterigmi più larghi in alto che in basso, lunghi micron 9,6 circa e larghi in media micron 3,2-3,6, uniti tra loro. Alla sommità portano conidi ellittici od ovali di micron 6,4 × 8,2 con una o due guttule, bruni a maturità, a superficie in molti casi granuloso-echinata.

Su carota vegetazione di meno rapida crescita che in agar fagiuoli e sporificazione tarda. Caratteri morfologici analoghi a quelli sopra descritti.

Su agar lievito pepto-glucosato vegetazione lenta, limitata, di colore nero con sfumature grigio-olivastre. Conidi di micron 6,4 × 9,6.

Caratteri non molto diversi su agar lievito gluco-peptonato.

Su malto sviluppo lentissimo di colonia di color bianco-roseo che non riesce, dopo un mese di coltura, a sporificare.

Su liquido Raulin normale non sviluppa. Su l. Raulin neutro si forma una membrana cerebroide grigio-nera in parte ricadente.

Di fronte a varie sorgenti alimentari manifestò un comportamento analogo a quello dei precedenti ceppi.

L'esame del complesso dei caratteri segnati fanno agevolmente rientrare i tre ceppi descritti entro il genere *Stachybotris* istituito da Corda, nel 1837, con la specie *Stach. atra*. Nel 1851 Bonord creò *Stach. alternans* per la particolare modalità di inserzione dei conidiofori sulle ife miceliche mentre poco dopo (1860) Berkeley riportò a *Stachybotris, Sporocybe lobulata* di Berkeley stesso.

Nel 1881 Saccardo distinse ancora *Stach. elata* e *Stach. papyrogena*. Ulteriormente fu istituita da Marchal *Stach. crassa* e infine Ferraris riportò a *Stachybotris*, dietro indicazioni di Saccardo, *Fuckelina socia*.

Questo genere fu oggetto di una rassegna monografica da parte di Oudemans il quale soffermandosi sui caratteri presentati dagli sterigmi staccò dal genere *Stachybotris* riunendole nel nuovo genere *Sterigmatobotris* le specie con sterigmi liberi invece che più o meno saldati.

Lindau (1907) seguito da Ferraris (1910) non accettò completamente le vedute di Oudemans e si limitò a scindere il genere nei due sottogeneri: *Eustachybotris* e *Sterigmatobotris*. Nel primo sottogenere comprese *Stach. atra, alternans* e *lobulata* distinguendole tra loro a seconda del numero e della forma degli sterigmi:

S.*atra*-Sterigmata circa 14, mamillata; conidia bilocularia;

S.*alternans*-Sterigmata circa 6-8, piriformia; conidia continua, loevia v. granulosa;

S.*lobulata*-Sterigmata circa 4-5, non mamillata; conidia continua, loevia v. echinata.

Le tre specie, secondo Lindau, rimarrebbero distinte dal numero degli sterigmi, sopratutto, più che dai caratteri relativi alla ramificazione dei conidiofori e dai caratteri dei conidi. Per quanto si riferisce a *Stach. alternans* cade quindi di conseguenza uno dei principali attributi della specie istituita verosimilmente per la ramificazione alterna dei conidiofori. Del resto, nella stessa diagnosi, questo carattere non è neppure decisamente affermato essendo stati descritti, i conidiofori, come « saepius simplicibus v. alterne ramosis » ed essendo d'altronde un carattere comune, anche, a *Stach. lobulata* (« conidiophoris... sparse v. alterno ramosis »).

Per quanto si riferisce ai caratteri dei conidi può dirsi collimino quelli dati per *Stach. alternans* e *Stach. lobulata*. Differirebbero da *Stach. atra* per presentarsi, in questa, bisettati o 1-settati e a parete liscia invece che continui e echinati. Se effettivamente, nella *atra*, si avessero conidi costantemente 1-settati si avrebbe un carattere sufficiente per distinguere la specie e magari staccarla in nuovo genere nell'ambito delle Phaeodidymae.

Invece si è che la settazione è solo e qualche volta apparente per il ravvicinarsi nella parte mediana delle superfici limiti delle due guttule la cui presenza non è esclusa nelle altre specie di *Stach. alternans* e *lobulata*. Non rimarrebbe quindi che l'aspetto echinulato della parete. Ma anche questo è un carattere tutt'affatto costante. Negli stati giovanili i conidi sono in ogni caso costantemente lisci. Maturi, o si mantengono lisci o in quantità maggiore o minore si presentano più o meno granulosi o echinati a seconda dell'età e del substrato.

Carattere distintivo delle specie sarebbe, adunque, il numero degli sterigmi. Ma anche questo carattere, nonostante le indicazioni di Lindau, non appare essere decisamente costante; e come norma, in ogni specie, il loro numero si aggira intorno a 4-8 essendo raramente in numero maggiore.

Per queste considerazioni, quindi, non è forse ingiustificato, oggi, riunire in una le tre specie ricordate (*Stach. atra, lobulata, alternans*) e riportarle tutte come forme alla prima specie descritta salvo di questa emendare la diagnosi:

Stachybotris atra Cda, diagn. emend.

Caespitulis effusis, delicatis, primo olivaceis deinde nigris. Hyphis sterilibus repentibus, ramulosis, septatis, hyalinis v. olivaceo-fumosis. Conidiophoris adscendentibus, 3-5 *micron cr.*,

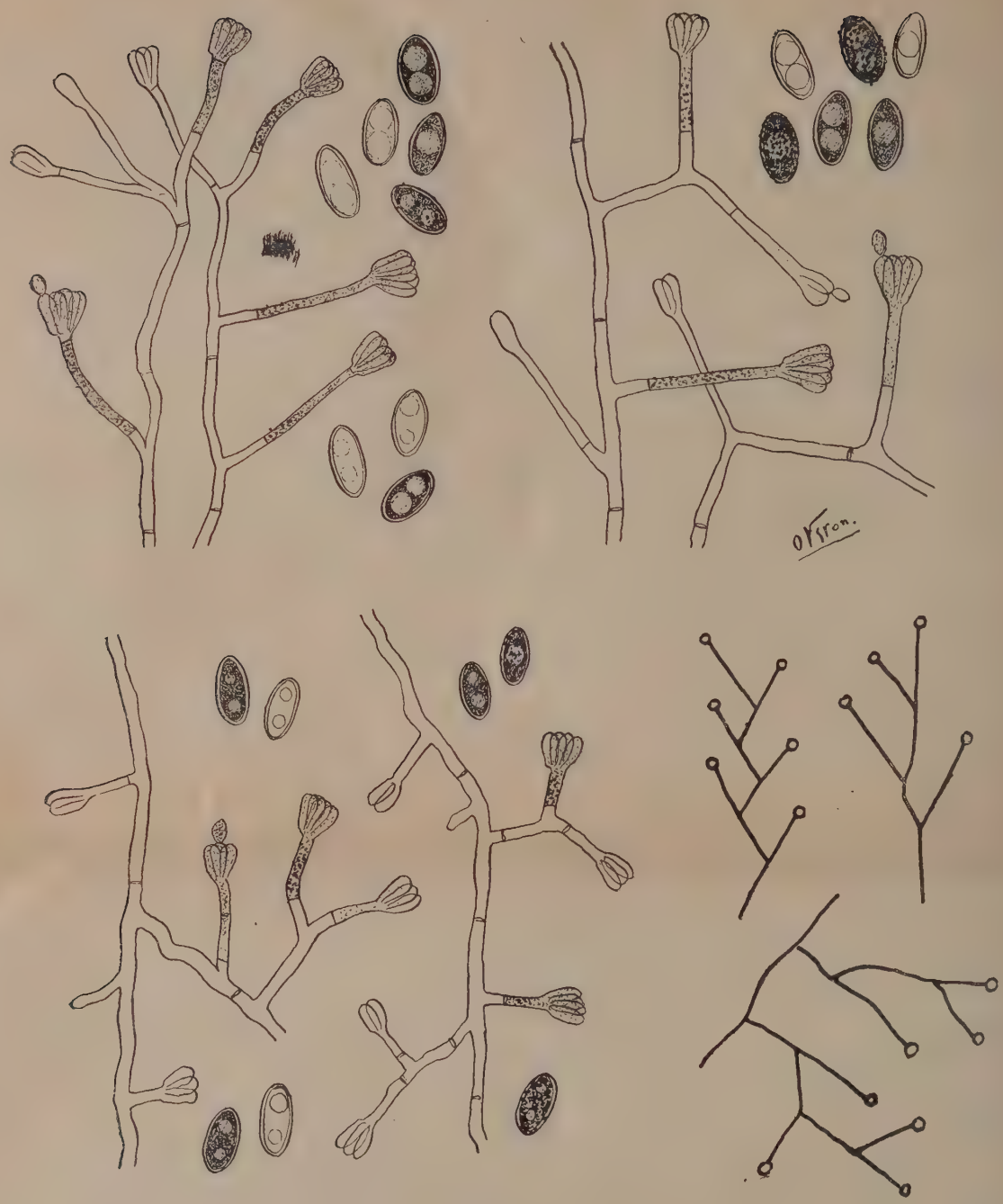


Fig. 33. — La lettura va fatta da sinistra a destra: *Stachybotris atra* Cda f. *genuina; Stachybotris atra* Cda f. *lobulata Stachybotris atra* Cda f. *brevicaule; Stachybotris atra* Cda f. *alternans;* schema di ramificazione dei conidiofori

simplicibus, dichotomicis, v. alternis, v. irregulariter ramosis, 32-48 *micron longis,* 3,5 *micron crassis, basaliter septatis et hyalinis v. subhyalinis, apicaliter brunneis et granulosis. Sterigmis* 4-8, *v., rarius, pluribus, in apice ramulorum verticillatis et aggregato-connatis, ellipticis v. subpiriformibus,* 4-6 × 10-12 *micron, primo subyalinis deinde fumoso-atris. Conidiis acrogenis, elliptico-ovatis v. obovatis,* 6-8 × 8-12 *micron, primo hyalinis v. fuligi-*

neis, dein atris, continuis, saepe v. plerumque biguttulatis, laevibus v. varie echinatis aut granulosis.

A questa specie sono pertanto da riferirsi i nostri ceppi n. 1 e 3.

Il ceppo n. 2 presenta caratteri collimanti con il tipo ma si differenzia per la lunghezza dei conidiofori a volte singolarmente raccorciati, onde può costituire una varietà a sè stante:

Stachybotris atra Cda v. *brevicaule* n. var.

A typo differt conidiophoris abbreviatis: mazime 32 *micron, minime* 9,6 *micron, mediae* 19-22 *micron longis.*

Hab. in libris vetustis.

VI. - Modi di azione dei germi "carticoli"

1. Azione distruttiva e perforatrice

Le pagine dei vecchi libri, come è noto, molte volte si presentano come « rosicate » verso i bordi; tal altre anche nelle parti centrali poichè fragmenti di carta si distaccano e cadono.

Nei libri di pubblicazione recente ciò non è dato di osservare. Però, qualora le carte di tali libri si osservino, con cura, per trasparenza allora anche in esse è possibile di vedere dei piccoli punti più chiari percettibili anche al tatto apparendo leggermente rilevati o depressi.

Toccando con ago da dissezione, queste piccole zone si staccano lasciando tracce di minute perforazioni.

L'indagine batterioscopica ora mette in evidenza ife miceliche ora — specie se si eseguiscono apportune colorazioni — forme batteriche. Rintracciandosi queste, la loro abbondanza unita ad uno stato di relativa « purezza » lascia escludere che si tratti di una presenza occasionale.

Noi potremmo ammettere i funghi quali agenti di perforazione. Ma atteso il loro modo di sviluppo, su carta, e tenuto presente l'azione dei batteri cellulositici siamo propensi a ritenere questi, più dei primi, responsabili di tale tipo di deterioramento. D'altronde un'azione combinata batterio-fungo o fungo-batterio è anche possibile.

2. Maculatura

Nonostante le macchie o tacche siano dovute ad agenti sistematicamente diversi il loro aspetto, in genere, non è oltremodo vario. D'altronde, per una data specie, non appare neppure costante (onde lo scarso valore diagnostico dei rilievi esteriori e macroscopici) influendo sui loro caratteri circostanze diverse.

Tali *fattori di variabilità* dell'aspetto esteriore delle tacche possono fondamentalmente riportarsi ai seguenti:

1° Qualità della carta in rapporto:
  a) alla sua tessitura;
  b) alla sua compisizione chimica.
2° Grado di umidità dell'ambiente.
3° Età dell'infezione.

Come, tali fattori, agiscano è di facile comprensione.

La tessitura della carta presentandosi ora compatta come nelle carte pressate o cilindrate, ora soffice (carte da filtro, assorbenti, ecc.) influisce nel rendere la penetrazione delle vegetazioni microbiche più agevole e la diffusione del pigmento più facile onde le tacche possono risultare più o meno espanse.

La composizione chimica (38), varia con l'origine delle materie prime e le modalità di fabbricazione, influisce sullo sviluppo dei germi come e sopratutto sopra il pigmento modificandosi questo per intensità come anche, sebbene in minor grado, per tonalità.

L'umidità (v. nota n. 1) è anche un fattore importante poichè essa agisce direttamente favorendo o ostacolando lo sviluppo dei germi e

---

(38) E' noto come le diverse carte, dopo combustione, lascino un contenuto in ceneri vario quantitativamente come qualitativamente. Ricerche qualitative noi non le abbiamo eseguite.

Ma per quanto si riferisce ai valori quantitativi si osservino, a titolo di esempio, i seguenti dati ove figura anche la percentuale di umidità.

CARTA	umidità %	ceneri % d. s. secca	CARTA	umidità %	ceneri % d. s. secca
n. 1	4,65	16,26	n. 6	7,86	1,39
„ 2	5,18	22,30	„ 7	6,47	12,83
„ 3	5,62	1,33	„ 8	7,59	1,19
„ 4	8,05	1.51	„ 9	6,52	10,67
„ 5	6,72	14,53	„ 10	5,47	9,38

indirettamente modificando le proprietà fisiche e di resistenza della carta.

L'età dell'infezione interessa non solo per l'ovvia circostanza che più antica essa è più sviluppati sono i germi ma sopratutto constatandosi che il pigmento subisce talvolta, con il tempo, profonde modificazioni.

In considerazione di queste circostanze è adunque impossibile nella maggioranza dei casi poter giudicare la natura dell'infezione attraverso il semplice rilievo macroscopico.

Comunque ciò non ci dispensa di fissare, per quanto è possibile, le osservazioni che seguono anche se esse assumono carattere del tutto generale e che interessano l'estensione, la forma e il colore delle tacche e di fare qualche rilievo sulla natura del pigmento.

Per quanto si riferisce alla *estensione* essa varia, come è facile di arguire, in relazione a cause intrinseche alla natura del fungo od anche estrinseche. Poichè il fungo può avere un comportamento assai esteso o limitato e possedere o non pigmento diffusibile. Spesse volte è dato di osservare macchie piuttosto estese apparentemente attribuibili ad una unica vegetazione; ma in realtà l'esame a mezzo di una lente a sufficiente ingrandimento rivela trattarsi di numerose piccole tacche confluenti. Sulla loro estensione influiscono poi le condizioni esterne come e non meno la qualità e le caratteristiche della carta. In relazione a questi fatti le dimensioni sono quindi variabilissime.

La *forma* delle tacche in genere è rotondeggiante o subrotonda (*Chaetomium bostrychodes*, *Chaetom. Kunzeanum*, per es.) ma può assumere aspetto ovoidale, allungato, ecc. fino ad irregolare in seguito a confluenza.

Il *bordo* non sempre presenta un limite ben netto; anzi, di solito, è frangiato o lobato come si verifica nelle tacche da *Spicaria*, *Stachybotris*, *Dematium*, *Cladosporium*, *Stemphilium*, *Alternaria*, ecc. Piuttosto netto appare solo nelle tacche da *Myxotrichum*, *Chaetomium*.

Per quanto ha riferimento al *meccanismo di formazione delle tacche*, o, più esattamente, del loro *colore*, due modi possono essere distinti a seconda cioè che il fungo produce o non produce un pigmento diffusibile. Specie possedenti un pigmento diffusibile sono ad es. *Chaetomium Kunzeanum*, *Ch. bostrychodes*, *Myxotrichum chartarum*, *Eidamella spinosa*, alcuni *Aspergillus*, *Spicaria elegans*, le *Stachybotris*, certe *Alternaria* e certi *Fusarium*. Le tacche da loro prodotte presentano una zona centrale costituita dalla vegetazione e una zona periferica non necessariamente della stessa intensità di colore del centro.

Specie non producenti pigmento diffusibile sono *Chaetomium chartarum*, *Dematium pullulans*, i *Cladosporium*, gli *Stemphylium*, la generalità delle *Alternaria*. La tacca ha allora una estensione più limitata ed è dovuta esclusivamente alla vegetazione fungina.

Il *colore* naturalmente varia con la natura del pigmento e, per una stessa tacca, con la composizione della carta e l'età della vegetazione.

Un'idea di questo si può avere attraverso l'esame del prospetto di cui alla pagina seguente preso, in parte, dal Sée.

Sée, soffermandosi sul pigmento diffusibile, coltivò varie specie di funghi in un substrato liquido e su esso eseguì rilievi colorimetrici oltre che saggiare il comportamento di fronte agli acidi (cloridrico e acetico) e le basi (acqua ammoniacale). Credette di poter concludere che i vari pigmenti non appartengono al gruppo delle antocianine.

I rilievi da noi eseguiti su qualche specie fortemente pigmentata non sono stati effettuati sui liquidi di coltura ma direttamente sopra il micelio o le fruttificazioni ottenute da colture su agar fagiuoli saccarosato o carote. Non da colture cresciute su altri mezzi essendo risultati, specialmente se ricchi in azoto, meno adatti alla formazione del pigmento. I risultati avuti attraverso le varie reazioni (39) per non essere confortati da analisi spettroscopiche che non abbiamo avuto modo di eseguire non ci illuminano molto sulla natura del pigmento. Tuttavia non si può escludere, forse anzi si potrebbe ammettere, che il pigmento dei funghi sperimentati sia di natura carotinoide socio probabilmente ad una fitosterina.

---

(39) Microsaponificazione secondo Molisch, reazione di Liebermann, di Mach, di Hirschsohn e prove di solubilità in etere, cloroformio, alcool etilico e metilico, ac. cloridrico e acetico 1 %, alcali potassico 1 %.

TACCHE SPONTANEE

Specie	Colore della tacca	Alone periferico
Asp. brunneo fuscus	Nero violaceo	Rosso bruno con sfumature violacee
Alternaria chartarum	Grigio nero o nero	—
Stachybotris atra	Nero o verde-nero	Grigio-verde o brunastro scuro
Choetom. bostrychodes	Verde bruno oliva	Giallastro
» chartarum	id.	—
» Kunzeanum	Bruno nero	Giallo bruno, circolare
Cladospor. herbarum	Dal nero al grigio - bruno e bruno-verde	—
Stemphylium sp.	Dal bruno al nero	—
Stysanus Stemmonites	id.	—
Alternaria polymorpha	Bruno scuro	—
Myxotrichum chartarum	Bruno scuro	Giallo, giallo-bruno
Eidamella spinosa	id.	Giallastro
Spicaria elegans	Color caffè latte	Giallastro o bruno chiaro
Acrostalagmus cinnabarinus	Arancione o ocra	Giallastro legg. arancio

TACCHE SPERIMENTALI

Chaetom. bostrychodes	Bruno-verde scuro	Dal giallo verdastro al giallo bruno
» Kunzeanum	Bruno-nero	Giallo oro prima chiaro poi scuro
Myxotrichum chartarum	Bruno scuro	Giallastro
Asp. sulphureus	Giallo-bruno	Dal giallo al giallo bruno
Cephalotecium roseum	Rosa salmone	Giallo rosa
Stachybotris atra	Nero	Grigio, verde scuro, bruno-nero
Cladosporium herbarum	Grigio-bruno-verde fino a nero	—
Stemphylium sp.	Marrone	—
Alternaria chartarum	Grigio nero o nero	—

VII. Riproduzione artificiale delle alterazioni

Metodo

Sée onde fornire la prova sperimentale delle alterazioni procedette alla semina di spore provenienti da colture su carote su pezzi di carta immersi in tubi contenenti pochi cmc. di acqua e sterilizzati all'autoclave. Non diversamente operò Baeumli.

E ancora così abbiamo effettuato noi ponendo dei rotoli di carta in tubi di Roux in fondo ai quali ponevamo 2-3 cmc. di acqua. L'insemenzamento lo si effettuata a mezzo di una sospensione di spore previa sterilizzazione dei tubi in autoclave.

Oltre che in tale maniera abbiamo però insemenzato anche fogli di carta sterile per riscaldamento in stufa a 160°C., oppure non, disposti su gelo-siliceo arricchito o no di sali minerali tra i quali nitrato di potassio.

Risultati

I serie di esperienze. — Questa prima serie di esperienze si ricollega a quelle dirette all'isolamento delle diverse forme cellulositiche.

Se prendiamo un qualsiasi pezzo di carta apparentemente sano o che comunque non lascia scorgere, anche attraverso l'esame per lente, traccia di alterazione e lo poniamo su di un gelo di silice, trascorsi due-tre giorni, sulla sua superficie sono evidentemente visibili piccole tacche tondeggianti di norma giallastre o color ocra. L'esame batterioscopico, abbiamo detto altrove, accerta trattarsi di *Cytophaga* o di *Cellvibrio*. Lasciando a sè la coltura entro pochi giorni — più o meno a seconda dell'intensità dell'infezione — le tacche si espandono fino a confluire. Con il tempo la vegetazione invade tutto il foglio. Se però sospendiamo all'inizio dello sviluppo la esperienza, preleviamo e poniamo la carta ad asciugare alla temperatura ambiente lo sviluppo si arresta; e allora la carta appare minutamente maculata in modo tale da riprendere, con tutta esattezza, certi tipi di maculatura lieve di colore giallo-ocraceo. Se prendiamo un pezzo di questa carta maculata artificialmente ed un pezzo di quella che presenta delle maculature spontanee dello stesso tipo e le adagiamo contemporaneamente su di un gelo lo sviluppo riprende nella prima e un pò più lentamente si manifesta nella seconda. D'altra parte, se si dispongono su gelo le stesse carte previamente sterilizzate sia all'autoclave che in stufa a secco nessuna vegetazione si manifesta dalle piccole macchie che rimangono immodificate. Questo abbiamo potuto osservare un numero considerevole di volte.

Ciò, a rigore, non costituisce la riprova sperimentale propriamente detta di certe alterazioni; ma è pur sempre una riproduzione artificiale di esse alterazioni; solo che è stata ottenuta piuttosto che seminando il germe provocando e favorendo il suo manifestarsi. D'altra parte, risultati non dissimili sia pure, qualche volta, ad esito più lento, abbiamo avuto seminando carta sterile con sospensioni di vegetazioni cellulositiche rappresentate da colture pure di *Cytophaga* o di *Cellvibrio* a parte coltivate.

Dei risultati di semine miste di questi germi con funghi sarà detto a proposito del III gruppo di esperienze.

II serie di esperienze. — Queste possono considerarsi una estensione o, se si vuole, un complemento di quelle riferite da Sée e da Baeumli poichè abbiamo seguito una analoga tecnica seminando con sospensioni di spore di funghi carta in tubi previamente sterilizzata. L'unica modificazione è stata quella di avere contemporaneamente seminato una stessa specie su carte di tipo diverso.

I funghi con i quali abbiamo sperimentato furono: *Chaetomium elatum*, *Ch. globosum*, *Ch. bostrychodes*, *Stachybotris atra*, *St. atra v. brevicaule*, *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Phoma chartae*, *Trichoderma lignorum*.

La semina di queste specie ha dato ogni volta esito positivo nel senso che sono comparsi tipi di maculatura comparabili con quelli che si rinvengono naturalmente. Le differenze di colore, le non meno accentuate differenze di sviluppo, furono relative alle diverse specie, giusta quanto fu rilevato a proposito della descrizione speciologica, come relative ai diversi tipi di carta.

Per quanto si riferisce a quest'ultima circostanza è di particolare rilievo il fatto che le carte non collate si presentano di più facile attacco o senza meno, per la maggiore diffusibilità del pigmento ove si tratti di funghi che lo producono, di più larga estensione, a parità di tempo che le carte non collate. Altresì qualche differenza si ha nel colore ma essa interessa più che la tonalità l'intensità apparendo generalmente un pò più colorate le carte senza colla.

III serie di esperienze. — Trattasi di infezioni miste eseguite a mezzo di cellulositici e di funghi. Ove, questi due tipi di germi, siano contemporaneamente presenti l'infezione si manifesta singolarmente più celere. Siccome per lo sviluppo di cellulositici le tacche appaiono circolari qualora con essi siano stati seminati funghi questi si sviluppano tutto attorno alla tacca costituendo un alone più o meno esteso e colorato. Tale alone, rappresentato dalla vegetazione fungina o, in parte, dal suo pigmento, limita in certo modo il progressivo estendersi della tacca cellulositica. Se lo sviluppo non si arresta o si tarda ad arrestarlo

VARI TIPI DI ALTERAZIONE NATURALE

il centro si trasforma in una massa di scarsa resistenza e di facile distacco originandosi perforatura. Siccome l'alone della vegetazione fungina permane si ha l'impressione che l'agente della perforazione sia stato il fungo.

In queste infezioni miste difficilmente si è visto svilupparsi prima il fungo e poi il germe cellulositico. Ciò si può spiegare in parte con le diverse attitudini di sviluppo delle singole forme sebbene anche molti funghi posseggano sviluppo rapido e rigoglioso. Ma si deve convenire come sia tutt'altro da escludersi che il fungo si giovi, senza meno in un primo tempo, dei prodotti ossicellulosici che il germe cellulositico forma in seguito all'attacco della cellulosa.

VIII. - Profilassi e cura delle alterazioni

Cenno storico

I metodi a tutt'oggi elaborati sono partiti prevalentemente dal concetto che le alterazioni delle carte e dei libri siano causate da insetti.

Essi risalgono all'avvertimento del « Gentlemans Magazine » (1754) il quale suggerì di spargere tra la carta polvere di allume e di usare per il collaggio colle di farina.

Nel 1853 A. De Quatrefages sostenne pertanto che certe larve sono così resistenti da non morire altro che in presenza di gas tossici e in conseguenza di un forte calore.

Al Congresso dei Bibliotecari tenutosi nel 1900 a Parigi numerosi metodi furono proposti e nonostante essi siano ancora tutti indirizzati alla soppressione degli insetti taluno può prestarsi anche alla devitalizzazione dei funghi.

Houlbert classificò tali metodi in quattro gruppi: meccanici, chimici, fisici, biologici.

I metodi meccanici consistono nell'incatramare o verniciare i mobili, chiudere ogni apertura del legno e, ove possibile, sostituire a questo il ferro. La pulizia, lo spolveramento dei volumi e la cattura diretta sono altre pratiche che si riconnettono alle prime. E le une, come le altre, non sono — è ovvio — che da raccomandarsi; avuto specialmente riferimento all'igiene del legno potendo molti funghi lignicoli (*Trichoderma*, ad es.). comportarsi come germi carticoli. Tali semplici pratiche sono tuttavia lontane dall'impedire la penetrazione e lo sviluppo dei microrganismi.

I procedimenti chimici sono diversi in relazione delle sostanze consigliate e del loro modo di azione. Cioè: odoranti quali canfora, naftalina, essenza di timo e di terebentina; asfissianti quali cloro, anidride solforosa, vapori di benzina, solfuro di carbonio, formalina; irritanti quali l'allume, il pepe, il borace, il piretro, il quassio, il petrolio; tossici come solfato e acetato di rame, sublimato in soluzione alcoolica, an. arseniosa, acido cianidrico, ecc.

Ora, tra questi metodi, quelli a base di sostanze cosidette odoranti o irritanti sono senz'altro da scartarsi poichè non solo non si mostrano efficaci ma sono, molte, di uso pericoloso in quanto infiammabili (benzina, petrolio, essenza di terebentina, ecc.). Le sostanze qualificate asfissianti o tossiche sono anche in genere da proscriversi ancorchè esplichino un'azione antisettica incontestabile. Infatti o sono fortemente velenose anche per l'uomo come il sublimato, l'anidride solforosa e arseniosa e, ancora maggiormente, l'acido cianidrico o sono capaci di deteriorare i libri come il cloro e la SO_2. Unica sostanza rimane l'aldeide formica.

I procedimenti fisici fanno capo al calore. Mentre il raffreddamento è senza azione una temperatura di 80° C. naturalmente può essere sufficiente in molti casi ad arrestare l'azione distruggitrice di certi microrganismi. Non vediamo tuttavia l'opportunità del suo impiego poichè a parte il fatto che l'autoclavatura, anche limitata ad una temperatura di 80° C., può provocare nei libri deformazioni varie; e l'altro, anche importante, che molti germi non vengono distrutti a 80° C.; resta il grave inconveniente che i libri si imbevono di umidità la quale li rende ulteriormente più suscettibili di attacco da parte dei funghi.

I metodi biologici intesi ad uccidere gli insetti per mezzo di funghi entomoftoracei non valgono neppure la pena di essere presi in considerazione.

Sée rivedendo tali metodi e sperimentandone dei nuovi giunse alla conclusione che, al fine di prevenire o arrestare lo sviluppo delle vegetazioni fungine, i bagni antiseptici risul-

tano poco pratici mentre raccomandabile è per contro la sterilizzazione a mezzo di vapori di aldeide formica. I bagni antisettici usati da Sée furono fluoruro di sodio, formalina commerciale in soluzione 8 per mille, soluzione idroalcoolica di sublimato (900 acqua, 100 alcool, 1 bicloruro di mercurio), soluzione acquosa 1 per mille di ossicianuro di mercurio.

La tecnica della disinfezione

I metodi ricordati si portano tutti, in genere, sopra la carta già fabbricata o stampata.

Non sufficientemente è stato insistito su due altri punti interessanti: uno relativo all'igiene della fabbricazione, l'altro all'igiene dei luoghi di conservazione e delle biblioteche.

Per quanto si riferisce al primo, avute presenti le varie manipolazioni cui subisce la materia prima, a noi sembra di dover raccomandare al fine di eliminare le cause prime di contaminazione:

1) che si proceda (ove ciò non si eseguisca) ad una energica sterilizzazione del materiale che perviene in cartiera;

2) che si faccia uso di acque di lavaggio possibilmente filtrate;

3) che si introduca nelle paste di collaggio una sostanza a sicura e duratura azione antimicrobica;

4) che l'essiccamento venga effettuato in locali bene aereati quando non sia possibile di agire con aria sterile.

In tale modo molte delle cause di contaminazione vengono certamente eliminate e le alterazioni, di conseguenza, rese più difficili.

Far subire alle carte, una volta allestite, processi di sterilizzazione per mezzo di bagni in soluzioni disinfettanti anche se l'esito è positivo non sembra, in effetti, cosa raccomandabile. Piuttosto, il bagno in vapori di formalina, suggerito da Sée per i libri potrebbe con profitto essere applicato alle carte prima che escano di cartiera, senza meno alle carte di più facile alterazione quali le carte collate. Non appare difficoltoso lo studio di un dispositivo avente carattere industriale. La formalina, d'altra parte, non è corrosiva, non è tossica ed è capace di devitalizzare non solo i germi dei funghi ma anche — l'esito è naturalmente in relazione al tempo — i germi dei cellulositici aerobi come qualche saggio ci ha dimostrato.

Avuto riguardo all'igiene delle biblioteche molti progressi si sono venuti realizzando in questi ultimi tempi a seguito della nuova tecnica costruttrice e dell'arredamento. Intanto ovunque si nota la tendenza a praticare nei nuovi edifici grandi aperture, aperture che consentono un più celere e sicuro ricambio di aria. Poi, ove ancora si faccia uso di mobili di legno la pratica della verniciatura specialmente con i nuovi tipi in uso assicura una lunga conservabilità al legname. Qualora questo non venga impiegato, del tutto razionale si presenta l'uso del metallo e del vetro.

In ogni caso la formalizzazione periodica sarà pratica da consigliarsi. Essa ci sembra rispondere nelle biblioteche pubbliche anche ad una misura di igiene generale.

Rimane infine la repressione delle alterazioni in essere e a ciò si potrà procedere con metodo curativo. In linea del tutto generale, qualora le alterazioni non siano diffuse o numerose, si potrà in corrispondenza della macchia disinfettare con un pennello imbevuto di soluzione idroalcoolica di sublimato. Sempre poi sarà necessario sottoporre il libro alla formalizzazione.

L'uso di raggi antibiotici, di recente introduzione, sembra che sorta effetti assai buoni: ma di esso non abbiamo esperienza personale. Nulla sappiamo poi come di fronte a tali raggi si comportino i germi cellulositici.

RIASSUNTO

Ripreso ed esteso lo studio delle alterazioni microbiche della carta e dei libri dopo avere discorso, premessi cenni sulla fabbricazione della carta, del modo di contaminazione delle carte e di conservazione dei microrganismi ed elencate le specie fungine cosidette carticole sono state passate in rassegna, per quel tanto che potevano interessare, le idee relative alla demolizione microbica della cellulosa.

Indi da materiale il più diverso, incluso carte di vecchi libri e carte di recente fabbricazione stampate o non, sono stati eseguiti, con metodi che vengono descritti, isolamenti di germi cellulositici e di funghi. Tra i cellulositici sono stati isolati numerose forme di Cytophaga, *indi*

Cellvibrio *scarse essendo le specie di* Cellfalcicula. *Tra i funghi gli isolamenti portarono al rinvenimento di* Chaetomium elatum *Kze et Schm.*, Ch. Kunzeanum *Zopf*, Phoma chartae *n. sp.*, Cephalosporium (Allantospora) Ciferii *n. sp.*, Trichoderma lignorum (*Tode*) *Harz.*, Gliocladium roseum (*Link*) *Bainier*, Coniosporium Perottianum *n. sp.*, Stachybotris atra *Cda di cui è stata emendata la diagnosi per avervi incluso* St. lobulata *e* alternans, St. atra *v.* brevicaule *n. v.*

In altro capitolo è stato discusso il modo di azione dei germi papiricoli soffermandosi sopratutto sopra la maculatura; indi si è proceduto alla riproduzione sperimentale delle alterazioni sia con i germi cellulositici fino ad ora non segnalati quali agenti di deterioramento, sia con i funghi, sia con gli uni e con gli altri insieme.

Infine è stato trattato della profilassi e cura delle alterazioni suggerendo alcuni accorgimenti durante la fabbricazione della carta, insistendo sulla igiene dei luoghi di conservazione e delle biblioteche, igiene da applicarsi con norme generali e con l'uso di formalizzazione risultando poco pratici o non sicuri altri metodi.

SUMMARY

This article deals with the micro-organisms and fungi which attack paper and books, with experiments in the cultivation of micro-organisms and of fungi, and suggests remedies against the evil.

In the experiments, the micro-organisms and the fungi were isolated from old books and from newly manufactured paper (printed and plain) by methods which are given in detail. The most frequent species of micro-organisms found were many varities of Cytophaga *and* Cellvibrio, *while the species of* Cellfalcicula *was scarce.*

The isolation of the fungi led to the discovery of Chaetomium elatum *Kze et Schm.*, Ch. Kunzeanum *Zopp.*, Phoma chartae (*new species*), Cephalosporium (Allantospora) Ciferii (*new species*), Trichoderma lignorum (*Toze*) *Harz.*, Gliocladium roseum (*Link*) *Bainier*, Coniosporium Perottianum (*new species*). *As* Stachybotris lobulata *and* S. alternans *are indistinguishable from* Stachybotris atra Cda, *the three varieties are treated as one. The* Stachybotris atra Brevicaule *is a new variety.*

The action of the paper germs with special attention to staining the paper is discussed, ando also the experiments made with the reproduction of the alterations made in paper by micro-organisms unknown until now as agents of deterioration, with fungi and with micro-organisms and fungi together.

Finally, the prophylaxis of the paper and the remedying of the damage done is dealt with by suggesting some methods of treating paper during its manufacture, by insisting on a rational hygiene in the places where books and paper are stored and in libraries and by using formaldehyde, as all other methods tried have given either poor results or are not certain in their effects.